BAND 30, HEFT 2 AUGUST 1957

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich

M. Klinkowski Aschersleben

H. Richter Berlin-Dahlem



Mit 34 Abbildungen

1 9 5 7

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 30 Heft 2 *S. 117—236 Berlin 1957*

Postverlagsort Berlin

INHALT

Abhandlungen

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. GÄUMANN, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. KLINKOWSKI, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. RICHTER, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. RICHTER, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. RICHTER vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 24.— DM **Einzelpreis 26,40 DM**

Aus der Eidgenössischen Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau Wädenswil
Direktor: Prof. Dr. F. Kobel

Untersuchungen über die kausalen Zusammenhänge des Erikawurzelsterbens

Von

L. STALDER und F. SCHÜTZ

Mit 9 Abbildungen

Einleitung und Problemstellung

In Gärtnereien, welche sich intensiv mit der Kultur von *Erica gracilis* befassen, kann in den meisten Fällen ein von Jahr zu Jahr immer stärker auftretendes Absterben der Pflanzen beobachtet werden. Betriebe, welche anfänglich mühelos Tausende von Erikapflanzen kultivierten, haben allmählich mit den größten Schwierigkeiten zu kämpfen. Die Ausfälle können so groß sein, daß die Erikakultur aufgegeben werden muß. Diese Erscheinung wird ganz allgemein als Erikasterben bezeichnet.

Über eine Absterbeerscheinung wird schon seit einiger Zeit aus den großen Anbaugebieten Deutschlands berichtet. Aus diesen Berichten geht aber eindeutig hervor, daß das Erikasterben in Deutschland nicht die gleichen Ursachen haben kann wie dasjenige, welches in den schweizerischen Betrieben auftritt. Um Verwechslungen zu vermeiden, ist es notwendig, diese beiden Erscheinungen einzeln zu definieren.

Das Krankheitsbild, welches als Erikawurzelsterben bezeichnet werden soll, äußert sich folgendermaßen: Bei den im Herbst abschließenden

zweijährigen sowie, wenn auch seltener, bei den einjährigen Pflanzen kann man bemerken, daß das Triebwachstum allmählich aufhört. Die kranken Pflanzen weisen infolgedessen ein buschiges, kurztriebiges Aussehen auf. Im Verlauf des Sommers werden die Triebspitzen anfänglich gelb und dann rötlich verfärbt. Diese Verfärbung schreitet anschließend von der Spitze her gegen die Triebbasis weiter. Eine weitere Erscheinung, welche aber nicht immer aufzutreten braucht, ist ein allmähliches Vertrocknen, welches wiederum an den Triebspitzen zuerst einsetzt. Man hat es also an den oberirdischen Pflanzenteilen mit Krankheitssymptomen zu tun, welche ganz allgemein mit Ernährungsstörungen und Austrocknungserscheinungen bezeichnet werden können. Kontrolliert man das Wurzelwerk, so kann man feststellen, daß es braun und abgestorben ist. Manchmal gelingt es der Pflanze, vor allem bei feuchter Witterung, sich bis in den Herbst dadurch am Leben zu erhalten, daß sie, wenn auch oft nur in geringem Ausmaß, ständig neue Wurzeln bildet, welche aber in kurzer Zeit wieder braun werden. Das Absterben des Wurzelwerkes ist also nicht ein allmählicher kontinuierlicher Vorgang, sondern ein beständiges Auf und Ab zwischen Abgehen und Neubildung. Setzt in dem Zeitpunkt, wo die Wurzelmasse auf ein Minimum reduziert worden ist, warme Witterung ein, kann nicht mehr genügend Wasser aufgenommen werden, und das Vertrocknen der Triebe beginnt. KNICKMANN und TEPE (1952/53) beschreiben ein Krankheitsbild, welches in den wesentlichen Zügen mit dem Erikawurzelsterben übereinstimmt. Sie bezeichnen es als Erikadörre, eine Benennung, welche nach unserem Dafürhalten nicht ganz zutreffend ist, da die Krankheit dieses Jahr, infolge der nassen Sommerwitterung, nur in den seltensten Fällen bis zum Vertrocknen der Triebe fortgeschritten ist.

Bei dem, was die beiden Autoren als „Eigentliches Erikasterben“ bezeichnen, handelt es sich um eine Absterbeerscheinung, welche einen ganz anderen Verlauf nimmt und mit den Symptomen des Erikawurzelsterbens nicht übereinstimmt. Es handelt sich nämlich um eine eigentliche Welkekrankheit, welche innerhalb von ein paar Tagen zum Vertrocknen der Pflanze führt. Wichtig sind die Angaben, welche uns Herr Dr. A. STAHN, Karl-Marx-Universität Leipzig, Institut für Gartenbau, in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt hat. Er schreibt unter anderem: „Wichtig ist, daß die Wurzeln bis zum Auftreten der Welke gesund aussehen und erst danach eine braune Verfärbung zeigen.“ Beim Erikawurzelsterben ist aber, wie weiter oben beschrieben, die Ursache darin zu suchen, daß das Wurzelwerk stark geschädigt ist.

Vorläufige Untersuchungen von OSTERWALDER, SCHÜTZ und VOGEL (1955) zeigen, daß die Wurzeln kranker Erikapflanzen stark von einem Pilz der Gattung *Olpidium* befallen sind. Dieser Pilz konnte auch während der vorliegenden Untersuchungen jederzeit und ohne Schwierigkeiten in kranken Erikawurzeln in großem Ausmaß gefunden werden. Seine endobiontische Lebensweise und die Tatsache, daß er in den Wurzeln gesunder Pflanzen nicht oder nur selten gefunden werden kann, lassen darauf schließen, daß es sich um einen Parasiten handelt. Folgende Feststellung gab zu den vorliegenden Untersuchungen Anlaß:

Das Erikawurzelsterben, wie es beschrieben wurde, tritt bei den wildwachsenden Pflanzen von *Erica carnea, Erica vagans* und *Calluna vulgaris* nicht auf. Mikroskopische Untersuchungen der Wurzeln zeigen, daß in den Rindenzellen *Olpidium* nur vereinzelt gefunden werden kann. Diese Feststellung konnte auch bei *Erica carnea* gemacht werden, welche in unmittelbarer Nähe der Versuche frei ausgepflanzt heranwuchsen. Auffallend ist aber die Tatsache, daß die jungen Wurzeln fast ausnahmslos von einer kräftigen ekto- und endotrophen Mykorrhiza befallen sind. Man könnte sich fragen,



Abb. 1. Links: Gesunde Pflanzen mit weißem Wurzelwerk. Mitte: Erikasterben, wie es vor allem in Deutschland auftritt. Der Sproß ist innerhalb weniger Tage, trotz gesunder Wurzeln, verdorrt. Das Wurzelwerk (auf der Aufnahme nicht gut sichtbar) hat sich erst nachträglich braun verfärbt. Rechts: Erikawurzelsterben. Keine Wurzel außen am Topfballen. Buschiges und kurztriebiges Sproßwachstum

ob die frei lebenden Ericaceen nicht durch *Olpidium* infiziert werden, weil die sich in den Rindenzellen befindende Mykorrhiza auf *Olpidium* eine antagonistische Wirkung hat, also in einem gewissen Sinn einen Schutz der Wurzelzellen gegen den Angriff des Parasiten darstellt. Nun kann aber immer wieder beobachtet werden, daß die kultivierten *Erica gracilis*, selbst wenn sie anfänglich starke Mykorrhizainfektionen aufweisen, vor allem im zweiten Jahr diesen Pilz zum größten Teil oder auch vollständig wieder verlieren. Durch die üblichen Kulturmaßnahmen wird also der Mykorrhizapilz aus den Wurzeln verdrängt. Im Hinblick auf das Wurzelsterben kann nun die entgegengesetzte Frage gestellt werden: Wird der Befall der Erikawurzeln durch *Olpidium* dadurch ermöglicht, daß durch irgendwelche Kulturmaßnahmen keine Mykorrhizainfektionen erfolgen können, daß also die Wurzeln des natürlichen Schutzes entbehren? Trifft diese Annahme zu, so hat man es mit einem typischen Beispiel zu tun, wie durch das Kultivieren einer wildwachsen-

den Art ein fein abgestimmtes biologisches Gefüge gestört und dadurch ganz bestimmten Parasiten freie Bahn geschaffen wird.

Welches sind nun aber die Kulturmaßnahmen, welche dazu führen, daß die Erikawurzeln die Mykorrhiza wieder verlieren? Bei der Bildung der durch *Rhizobium leguminosarum* Frank hervorgerufenen Wurzelknöllchen bei Leguminosen ist bekannt, daß die Stickstoffdüngung von entscheidender Bedeutung ist. Werden zum Beispiel Erbsenpflanzen reichlich mit Stickstoff versorgt, so gehen nicht nur keine Bakterieninfektionen an, sondern auch die schon erfolgten Infektionen vermögen keine Knöllchenbildung mehr zu veranlassen (Stalder 1951). Es ist demnach sehr wohl möglich, daß die Verhältnisse beim Mykorrhizapilz in den Erikawurzeln ähnlich liegen, dies umso mehr, als ja bei der Erikakultur der Blühtermin in erster Linie mit der Stickstoffdüngung reguliert wird. Je reichlicher die Pflanzen mit diesem Nährstoff versorgt werden, um so später blühen sie (Schütz 1946). Da man bestrebt ist, die Eriken erst im Oktober des zweiten Jahres zum Blühen zu bringen, müssen sie während zweier Jahre mit erheblichen Stickstoffmengen versehen werden. Aus diesem Grunde wurde es als notwendig erachtet, dem Einfluß der Stickstoffdüngung auf die Mykorrhiza vermehrte Aufmerksamkeit zu schenken.

Im Verlauf dieser Untersuchungen konnte aber beobachtet werden, daß nicht nur allein der Mykorrhizapilz, sondern auch verschiedene andere Faktoren, welche für das Wurzelsterben entscheidend ins Gewicht fallen, durch die Düngung beeinflußt werden. Die Untersuchungen beschränken sich deshalb nicht allein auf das Verhalten der Mykorrhiza und ihre Bedeutung im Hinblick auf das Erikawurzelsterben, sondern der Effekt der Düngung wurde auch auf andere Faktoren, wie Wachstum von Wurzelwerk und Sproß, Blühtermin, *Olpidium*-Befall usw., ausgedehnt. Bevor auf diese Fragen näher eingegangen wird, erachten wir es als notwendig, die wichtigsten Mikroorganismen, welche im Verlauf dieser Untersuchungen in und auf den Wurzeln von *Erica gracilis* gefunden werden konnten, in einer kurzen Zusammenstellung zu erwähnen.

An dieser Stelle danken wir Herrn Dr. W. Vogel, Entomologe an der Versuchsanstalt, bestens für die praktischen Ratschläge, welche wesentlich zum guten Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Ebenso gebührt unser Dank Herrn A. Bussmann, Chemiker, für die Berechnung und Herstellung der Nährlösungen.

I. Die wichtigsten Mikroorganismen in und auf den Wurzeln von *Erica gracilis*

1. Mykorrhiza

Über die Mykorrhiza bei Ericaceen sind schon eingehende Untersuchungen durchgeführt worden. Rayner (1925) ist der Ansicht, daß bei *Calluna vulgaris* nicht nur die Wurzeln, sondern auch der Sproß von Mykorrhizapilzen durchwuchert ist. Christoph (1921) und Freisleben (1934) gelang es jedoch nicht, eine systemische Mykorrhiza bei *Calluna vulgaris* nachzuweisen.

Hingegen ist es Freisleben geglückt, mit vier Pilzstämmen, welche er aus den Wurzeln von drei *Vaccinium*-Arten isolierte, die typische Mykorrhiza zu erzeugen. Zwei von diesen Stämmen (isoliert von *Vaccinium myrtillus*) erwiesen sich bei den vorliegenden Untersuchungen nach 22 Jahren noch als voll infektionsfähig.

Wie schon erwähnt, konnte bei den frei lebenden Eriken die Mykorrhiza jederzeit und ohne Schwierigkeit gefunden werden, und zwar bildet sie entsprechend den Beobachtungen von Rayner (1925) und Freisleben (1934) kräftige Knäuel in den jungen Wurzeln, während sich in den älteren Wurzeln deutliche Verdauungserscheinungen bemerkbar machen. Bei den kultivierten *Erica gracilis* hingegen ist das nur bei den jungen Pflanzen der Fall. Schon im ersten, vor allem aber im zweiten Jahre sind die Eriken, übliche Kulturbedingungen vorausgesetzt, sozusagen frei von Mykorrhiza.

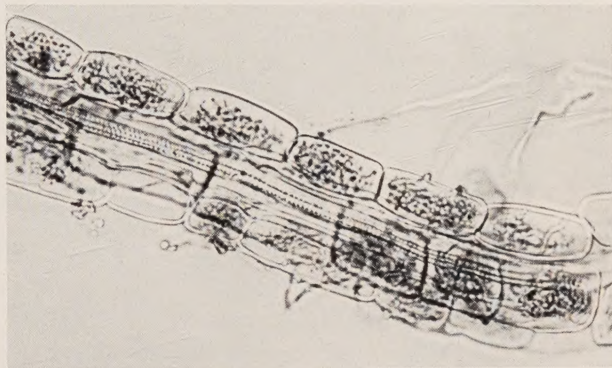
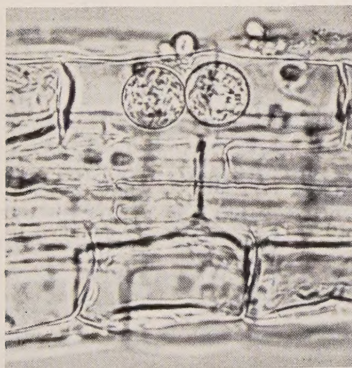


Abb. 2. Kräftige ekto- und endotrophe Mykorrhiza in einer jungen Wurzel von *Erica gracilis* (Baumwollblaufärbung)

2. *Olpidium* spec.[1])

Der Nachweis dieses Pilzes in den Wurzeln war jeweils schon im ersten Jahr, vor allem aber im zweiten Jahr bei den üblichen Kulturmaßnahmen



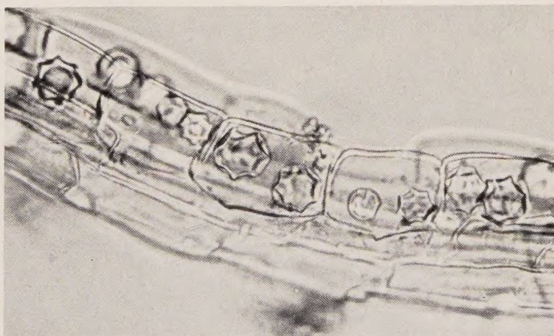


Abb. 3 (links). Zoosporangien von *Olpidium* spec. in den Wurzelzellen von *Erica gracilis*
Abb. 4 (rechts). Dauersporen von *Olpidium* spec. in den Wurzelzellen von *Erica gracilis*

[1]) Nach neuesten Übertragungsversuchen (Osterwalder 1957) handelt es sich um *Olpidium brassicae* (Wor.).

ohne Schwierigkeit zu erbringen. Dies betrifft sowohl die runden Zoosporangien als auch die sternförmigen Dauersporen. Das Auffinden unter dem Mikroskop wird dadurch vereinfacht, daß die Zentralzylinder stark befallener Wurzeln, vermutlich durch Anthocyaneinlagerung, oft rot verfärbt sind. Entleerte und lädierte Zoosporangien sind vor allem gegen den Herbst hin sehr häufig zu finden. Die Befallshäufigkeit je Zelle ist sehr unterschiedlich. Es

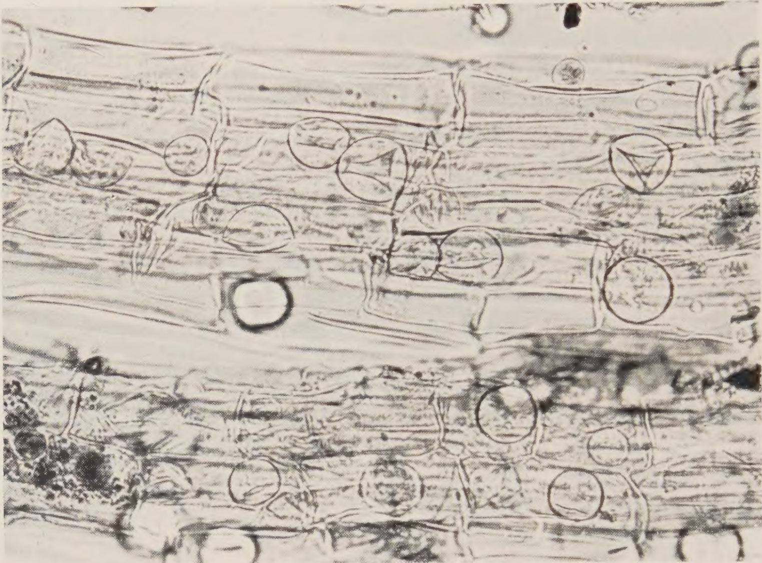


Abb. 5. Entleerte und lädierte Zoosporangien

ist keine Seltenheit, daß fünf und mehr Zoosporangien in einer Zelle vorhanden sein können, während andere Zellen entweder leer oder nur von einem Zoosporangium befallen sind.

3. *Rhizophidium* spec.

In bezug auf das Erikawurzelsterben kommt auch einem Vertreter der Gattung *Rhizophidium* große Bedeutung zu. Dieser Pilz trat im Verlauf des Sommers immer stärker auf, so daß sein zahlenmäßiges Vorkommen oft dasjenige von *Olpidium* übertraf. Es ist unseres Wissens erstmalig, daß ein Vertreter dieser Gattung parasitierend auf Pflanzenwurzeln gefunden wurde. Bis jetzt konnte *Rhizophidium* hauptsächlich nur auf Pollenkörnern, Algen und Zooplankton festgestellt werden. Daß es sich auf *Erica gracilis* um einen Parasiten handelt, ist ohne Zweifel. Im Gegensatz zu *Olpidium* sitzt das Zoosporangium von *Rhizophidium* den Wurzelzellen auf und ist einzig mit Hilfe von Rhizoiden mit dem Wirt in Verbindung. Morphologisch sind die Zoosporangien sowohl in ihrer Größe als auch in ihrer Form sehr unterschiedlich. Teilweise sind sie rund, teilweise aber auch birnförmig. Die Frage, ob es sich um verschiedene Arten handelt, bleibt dahingestellt.

4. Im Verlauf der Wurzeluntersuchungen konnten auch *Cylindrocarpon radicicola* und *Thielaviopsis basicola* gelegentlich gefunden werden. Diese beiden Pilze scheinen aber beim Erikawurzelsterben kaum beteiligt zu sein. Weiterhin ist noch zu erwähnen, daß parasitäre Nematoden, welche zum Beispiel bei Azaleen ein Wurzelsterben verursachen, bei *Erica gracilis* nicht vorhanden waren.

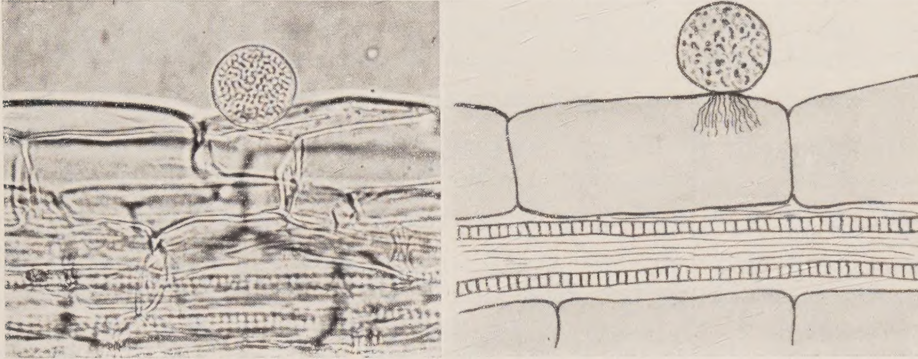


Abb. 6. Rundes *Rhizophidium* auf einer jungen Wurzel von *Erica gracilis.* Die Rhizoiden sind auf der Mikroaufnahme links nicht sichtbar, weil sie nicht in der gleichen Ebene liegen. Rechts: Schematische Darstellung

II. Der Einfluß der Stickstoffdüngung auf das Erikawurzelsterben

Will man die Rolle, welche die Düngung beim Erikawurzelsterben spielt, klären, so stößt man von vorneherein auf ganz erhebliche Schwierigkeiten. Es handelt sich nämlich nicht um ein einzelnes Problem, welches durch diese Untersuchungen aufgegriffen wird, sondern es gelangt zwangsläufig ein ganzer Fragenkomplex zur Diskussion. Man kann sich leicht vorstellen, daß durch das Düngen die verschiedensten Faktoren betroffen werden, welche gegenseitig zueinander in Beziehung stehen. Das Ergebnis dieser gegenseitigen Beziehungen kommt im allgemeinen Entwicklungs- und Gesundheitszustand der Pflanze zum Ausdruck. Die Aufgabe besteht aus diesem Grunde darin, den ganzen Fragenkomplex nach Möglichkeit in die einzelnen Teilfragen zu zerlegen und die Düngung auf jeden dieser Teilfaktoren einwirken zu lassen. Die Durchführung von verschiedenen Kleinversuchen erwies sich aus diesem Grunde als unerläßlich. Um die Auswirkung der Stickstoffdüngung einigermaßen klären zu können, muß sowohl deren direkter als auch indirekter Einfluß auf das Wachstum von *Erica gracilis* untersucht werden. Direkt kann er sich auswirken, indem er das Wurzel- und das Sproßwachstum sowie den Blühtermin verändert. Eine indirekte Beeinflussung ist möglich, wenn durch den Stickstoff die Infektionshäufigkeit von Mykorrhiza, *Olpidium* und *Rhizophidium* tangiert wird.

Für die Düngversuche wurden die Nährlösungen folgender Zusammensetzung verwendet:

Tabelle 1

Die Zusammensetzung der verwendeten Nährlösungen

	Nährstoffe in Milligramm je Liter			
	KH_2PO_4	$(NH_4)_2SO_4$	$NH_4H_2PO_4$	K_2SO_4
PNK	47,9	117,9	—	15,4
$\frac{P}{10}NK$	4,8	117,9	—	44,2
$P\frac{N}{10}K$	47,9	11,8	—	15,4
$PN\frac{K}{10}$	7,2	98,0	19,8	—
$\frac{PNK}{10}$	4,8	11,8	—	1,5
$P\frac{N}{100}K$	47,9	1,2	—	15,4
P3NK	47,9	353,2	—	15,4
$P\frac{N}{3}K$	47,9	39,2	—	15,4
$\frac{PNK}{3}$	16,0	39,2	—	5,2

Die Nährstoffkonzentrationen wurden aus dem Grunde so niedrig gewählt, um eine Anreicherung derselben im Torf und damit eine Verfälschung der Ergebnisse zu vermeiden. Der Pflanze sollten nach Möglichkeit nur so viel Nährstoffe zugeführt werden, als sie fortlaufend aufnehmen kann.

1. Die direkte Auswirkung der Stickstoffdüngung auf das Wachstum von *Erica gracilis*

a) Die Wirkung auf das Wachstum von Wurzel und Sproß

Im Verlauf der Untersuchungen zeigte es sich, daß die Düngung, in erster Linie die Stickstoffdüngung sich entscheidend auf das Wurzelsterben auswirkt. Dies aus folgendem Grunde:

Wird eine Erikapflanze reichlich mit Stickstoff versorgt, so kann man schon nach vier bis acht Wochen bemerken, daß das Wurzelwerk sein Wachstum fast vollständig einstellt, während sich der Trieb mastig weiterentwickelt. Es werden viele Seitentriebe gebildet, so daß die Pflanze ein buschiges Aussehen bekommt. Die Farbe ist dunkelgrün, während die Pflanzen bei Stickstoffhunger gelbgrün bis rötlich gefärbt sind. Diese Beobachtung ist nicht neu. Schon Melin (1925) hat festgestellt, daß sich die Wurzeln von jungen Kiefernpflanzen unter sterilen Bedingungen schlechter entwickelten, wenn man ihnen leichtlösliche Stickstoffverbindungen zur Verfügung stellt, als auf stickstofffreiem Substrat. Mit Stickstoff konnten jedoch die längeren Nadeln erzielt werden. Wie aus den Abbildungen der Arbeit von Melin entnommen werden

kann, ist die Einwirkung des Stickstoffes aber nicht so schwerwiegend, wie dies bei *Erica gracilis* der Fall ist. Der Versuch, welcher dies zeigte, wurde folgendermaßen durchgeführt:

Versuch 1: Der Einfluß des Stickstoffes auf Wurzel und Sproß.

Bewurzelte Stecklinge ohne Mykorrhiza und *Olpidium* pflanzte man in sogenannte Cuvetten[1]) in sterilen Juratorf aus. Während ungefähr zwei Monaten wurde nicht gedüngt. Zu diesem Zeitpunkt hatte das Wurzelwerk ungefähr ein Drittel der Cuvetten ausgefüllt (vgl. Abb. 7). Alle zehn Tage wurde nun ein Teil der Cuvetten mit der P 3N K- und der andere Teil mit der $P \frac{N}{100}$ K-Nährlösung angestaut (Zusammensetzung dieser Nährlösungen vgl. Tabelle 1). Nach weiteren drei Monaten wurde der Versuch abgebrochen. Die Ergebnisse dieses Versuches zeigt Abbildung 7: Während in der Cuvette rechts $\left(P \frac{N}{100} K\right)$ die Wurzeln sich kräftig entwickelt und die ganze Cuvette ausgefüllt haben, stellten die Wurzeln in der Cuvette links unter dem Einfluß der P 3N K-Lösung ihr Wachstum fast vollständig ein. Die Entwicklung des Sprosses ist aber derjenigen der Wurzeln gerade entgegengesetzt. Die P 3N K-Lösung bewirkte die Bildung vieler Seitentriebe. Das Wachtum ist mastig und die Farbe dunkelgrün, während in der Cuvette rechts die Pflanzen mager sind und eine hellgrüne Farbe aufweisen. Diese Feststellung ist im Zusammenhang



Abb. 7. Der direkte Einfluß der Stickstoffdüngung auf das Wurzel- und Sproßwachstum. Cuvette links: P 3N K. Cuvette rechts: $P \frac{N}{100} K$

1) Über die Konstruktion und Bedeutung der Cuvetten für den Kleinversuch wird anderweitig berichtet.

mit dem Erikawurzelsterben von größter Bedeutung. Durch die Stickstoffdüngung entsteht zwischen der Entwicklung des Sprosses und derjenigen der Wurzeln eine ausgeprägte Diskrepanz. Für die Versorgung des starken Triebes wäre ein entsprechend kräftiges Wurzelwerk notwendig; doch ist gerade das Gegenteil der Fall. Je größer der Sproß, je größer die transpirierende Oberfläche, um so geringer sind die Wurzeln ausgebildet. Es ist leicht verständlich, daß eine solche Pflanze gegen alle Umweltseinflüse sehr empfindlich ist. Sie verträgt zum Beispiel auch eine momentane Wärmewirkung schlecht, da das geringe Wurzelwerk nicht genügt, um den gesteigerten Transpirationsstrom aufrechtzuerhalten. Dies zeigt Abb. 7 sehr deutlich. Die beiden Cuvetten wurden während ungefähr 15 Minuten der direkten Sonne ausgesetzt. Schon nach dieser kurzen Zeit zeigten die Pflanzen in der Cuvette links Welkeerscheinungen, trotz der hohen Feuchtigkeit des Torfes, während die Eriken in der Cuvette rechts schön turgeszent blieben.

Eine stark mit Stickstoff versorgte Pflanze ist für das Wurzelsterben prädisponiert, denn man kann sich leicht vorstellen, daß sich ein Angriff durch *Olpidium* und *Rhizophidium* um so katastrophaler auswirkt, je schwächer das vorhandene Wurzelwerk ist. Dagegen wird eine Pflanze, welche sich im Zustande des Stickstoffhungers befindet, den Parasiten viel länger widerstehen, allein schon darum, weil sich infolge des kräftigen Wurzelwerkes ein teilweises Wurzelsterben an den oberirdischen Pflanzenteilen noch gar nicht bemerkbar macht. Ein weiterer Nachteil des geschwächten Wurzelwerkes ist der Umstand, daß der Gärtner die Entwicklung der Pflanze nicht mehr regulieren kann, da sie auf die Düngung infolge der gestörten Nährstoffaufnahme nur noch teilweise anspricht. Er kann den Blühtermin nicht mehr bestimmen. Entweder kommt der Blütenansatz zu früh und die Pflanze treibt noch einmal durch, oder er kommt zu spät und sie ist unverkäuflich. Eine weitere Schwierigkeit macht sich bei der Regulierung der Wasserversorgung bemerkbar. Infolge der geringen Wurzelentwicklung ist es notwendig, vor allem im Sommer den Torf möglichst feucht zu halten, da sich sonst Welke-, ja sogar Austrocknungserscheinungen bemerkbar machen. Aus diesem Grund ist die Gefahr des sogenannten Vergießens ebenso häufig wie diejenige des Vertrocknens. Andauernde Feuchtigkeit bedeutet aber eine schlechte Durchlüftung des Wurzelballens, was wiederum die Entwicklung der Wurzeln hemmt.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß das Erikawurzelsterben nicht nur ein Problem eines einfachen Wirt-Parasiten-Verhältnisses darstellt, sondern daß bei der Klärung einer Frage eine Menge neuer Teilprobleme auftauchen. Es handelt sich um einen Fragenkomplex, dessen einzelne Probleme eng miteinander verknüpft sind, sowohl diejenigen der mykologischen wie auch diejenigen der kulturtechnischen Seite. Aus diesem Grunde wird, wie schon erwähnt, in dieser Arbeit versucht, nach Möglichkeit eine Gliederung des ganzen Komplexes in die einzelnen Teilprobleme vorzunehmen.

b) Die Wirkung auf den Blühtermin

Es ist nun anzunehmen, daß als erste Maßnahme gegen das Erikawurzelsterben eine starke Reduktion der Stickstoffdüngung empfehlenswert wäre.

So sehr aber ein solches Vorgehen im Hinblick auf ein harmonisches Verhältnis zwischen der Entwicklung des Wurzelwerkes und des Sprosses zu begrüßen ist, geht es nicht ohne weitere an, die Norm, welche in der Praxis üblich ist, abzuändern. Dies aus folgenden Gründen:

Der Erikaproduzent ist bestrebt, Pflanzen mit möglichst kräftigem Sproß von dunkelgrüner Farbe zu erzielen. Sogenannte Hungerpflanzen sind im Handel nicht begehrt. Ein weiterer Grund, warum auf reichliche Stickstoffgaben nicht verzichtet werden kann, ist der, daß es darum geht, den Blühtermin nach Möglichkeit in den Oktober hinauszuschieben. Je mehr Stickstoff man einer Erikapflanze verabreicht, um so später blüht sie (SCHÜTZ 1946). Dies zeigt uns eindeutig der nächste Versuch.

Versuch 2: Der Einfluß der Düngung auf den Blühtermin von *Erica gracilis*.

Als Versuchsobjekt dienten Pflanzen im zweiten Kulturjahr, nachdem sie im Verkaufstopf eingewurzelt waren. Es gelangten folgende zehn Versuchskombinationen zur Prüfung:

Konzentration der Nährlösung	Zeitliche Begrenzung des Düngens
$\frac{PNK}{4}$	bis zum 10. August
$\frac{PNK}{4}$	bis zum 10. September
$\frac{PNK}{4}$	bis zum Verkauf
$\frac{PNK}{2}$	bis zum 10. August
$\frac{PNK}{2}$	bis zum 10. September
$\frac{PNK}{2}$	bis zum Verkauf
PNK	bis zum 10. August
PNK	bis zum 10. September
PNK	bis zum Verkauf
Kontrolle ungedüngt	bis zum Verkauf

Jede Versuchsgruppe umfaßte 50 Pflanzen in zwei Parallelen, welche sorgfältig ausgelesen wurden, um ein möglichst einheitliches Ausgangsmaterial zu erhalten. Am 23. April wurde mit dem Düngen begonnen. Der Stand der Blütenentwicklung wurde nach dem folgenden Schema bonitiert:

Klassenwerte	Stadium der Blütenentwicklung
0	Kein Blütenansatz vorhanden.
1	Blütenansatz kaum bemerkbar. Die Einzelblüte ist höchstens als schwach roter Punkt angedeutet.
2	Die Einzelblüte ist deutlich rot, aber noch geschlossen und nicht gestielt.
3	Die Einzelblüte ist gestielt, aber noch geschlossen. Die Farbe ist rosa mit einem roten Punkt in der Mitte.
4	Die Blüte ist kräftig rot, aber noch geschlossen.
5	Die Blüte ist geöffnet.

Es ist natürlich klar, daß sich bei einer Pflanze nie alle Blüten im gleichen Entwicklungsstadium befinden. Aus diesem Grund wurden bei der Bewertung auch halbe Punkte zugemessen. Hatte bei einer Pflanze zum Beispiel die Hälfte der Blüten das Entwicklungsstadium 4 erreicht, während die andere Hälfte mit der Note 3 taxiert werden mußte, so erhielt diese Pflanze einen Klassenwert von 3,5. Indem man bei einer Versuchsgruppe die Anzahl der Fälle mit den entsprechenden Klassenwerten multiplizierte, alle diese Produkte summierte und durch die Anzahl der Pflanzen (50) dividierte, erhielt man den Bonitationswert der entsprechenden Gruppe, der um so größer ist, je weiter die Entwicklung der Blüte gediehen ist. Die Ergebnisse sind die folgenden:

Tabelle 2

Der Einfluß der Stickstoffdüngung auf den Blühtermin von *Erica gracilis*

Konzentration der Nährlösung	Bonitationswerte am 12. September		
	gedüngt bis zum 10. August	gedüngt bis zum 10. September	gedüngt bis zum Verkauf
$\frac{PNK}{4}$	2,2	1,9	2,0
$\frac{PNK}{2}$	1,2	1,3	1,5
PNK	0,8	1,0	1,1
Kontrolle ungedüngt	—	—	2,9

Die Zahlen in Tabelle 2 zeigen, daß die Blütenentwicklung mit der verabreichten Nährstoffkonzentration in einem engen Zusammenhang steht. Je höher die Konzentration, um so weniger weit ist die Entwicklung der Blüten gediehen. Daß der Stickstoff die entscheidende Rolle spielt, zeigt ganz eindeutig der Praxisversuch 9. Merkwürdig ist, daß die Zeitspanne, während welcher der Dünger verabreicht wurde, keinen Einfluß auf den Zeitpunkt des Blühens hatte, ja daß sogar bei den Pflanzen, welche bis zum Verkauf gedüngt wurden, das Blühen etwas weiter fortgeschritten war als bei denjenigen, welche bis zum 10. August Dünger erhielten. Diese Tatsache weist darauf hin, daß der Termin des Blütenansatzes schon vorher entschieden wird und nachträglich nicht mehr korrigiert werden kann. Dieser Versuch zeigt auch ganz eindrücklich, daß im Hinblick auf die Verhütung des Erikasterbens die Stickstoffgaben nicht beliebig variiert werden können, da sich ein solches Vorgehen sofort auf den Entwicklungszustand der Pflanze, auf die Blühwilligkeit und den Blühtermin auswirkt. In dieser Hinsicht ist zu erwähnen, daß schon durch die Verminderung der normalen Düngermenge auf die Hälfte die erzielten Pflanzen den Anforderungen des Handels nicht mehr genügten. Es ergibt sich somit zwangsläufig eine sich unheilvoll auswirkende Kontroverse im Erikaanbau. Einerseits ist es wünschenswert, im Hinblick auf das Erikawurzelsterben die Stickstoffgaben zu reduzieren, anderseits ist dies aber im Hinblick auf die Produktion von marktgängigen Pflanzen nicht möglich.

2. Die indirekte Auswirkung der Stickstoffdüngung auf das Wachstum von *Erica gracilis*

Im vorhergehenden Abschnitt wurde gezeigt, wie die Düngung, in erster Linie der Stickstoff sich direkt auf das Wachstum des Sprosses und des Wurzelwerkes wie auch auf die Blütezeit auswirkt. Im weiteren soll nun versucht werden, zu klären, inwiefern eine indirekte Beeinflussung der Düngung für das Erikasterben verantwortlich ist. Eine nähere Prüfung dieser Frage ist nicht zu umgehen, da verschiedene Beobachtungen darauf hinweisen, daß die Düngung einen wesentlichen Einfluß auf wurzelbewohnende Mikroorganismen ausübt, welche ihrerseits wiederum mit den Absterbeerscheinungen in enger Beziehung stehen. In diesem Zusammenhang sei noch einmal auf die anfänglich erwähnte Erscheinung hingewiesen, daß der Mykorrhizabesatz der Erikawurzeln, schon bald nachdem die Pflanzen gedüngt werden, immer mehr abnimmt und schließlich ganz verschwinden kann. Deshalb wurde dieser Frage besondere Aufmerksamkeit geschenkt.

a) Die Wirkung auf die Mykorrhiza

Der zur Klärung dieser Frage durchgeführte Versuch wurde folgendermaßen disponiert:

Versuch 3: Die Wirkung der Stickstoffdüngung auf den Mykorrhizabefall.

Gläserne Blumentöpfe von zylindrischer Form wurden ungefähr zu einem Drittel mit reinem Quarzsand gefüllt, welchen man mit ungefähr 2 cm sterilem Juratorf abdeckte. Die Durchbohrung im Boden wurde mit Nylongewebe verschlossen, um ein Herausrieseln des Sandes zu vermeiden. Durch dieses Vorgehen konnte ein guter Wasserabzug und somit eine optimale Durchlüftung des Torfes erzielt werden (vgl. Abb. 8).

Die Mykorrhizapilze wurden vom „Centraalbureau voor Schimmelcultures“ in Baarn bezogen. Am besten eignete sich ein Stamm, welcher von Freisleben (1934) aus den Wurzeln von *Vaccinium myrtillus* isoliert wurde (Stamm *Mycelium radicis myrtilli* α = MR mα). Diesen Pilz vermehrte man zuerst in Erlenmeyerkolben in einer zweiprozentigen Malzextraktlösung. Nach ungefähr 14 Tagen schüttelte man das submers wachsende Myzel tüchtig, so daß es sich relativ fein in der Nährlösung verteilte. Die weitere Vermehrung geschah ausschließlich in sterilem Torf, welchem ein Prozent Malzextrakt zugefügt wurde, um dem Pilz einen besseren Start zu ermöglichen. Den so vorbereiteten Torf beimpfte man mit 2 ccm des erwähnten Myzel-Nährlösungsgemisches und inkubierte ihn anschließend während zwei bis drei Monaten bei Zimmertemperatur. Diese Mykorrhizakultur wurde im Verhältnis 1 : 2 mit sterilem Torf vermischt und, wie schon erwähnt, in die Gläser abgefüllt. Der Glaswand entlang steckte man Erikastecklinge und deckte die Gläser, bis sich die Stecklinge bewurzelt hatten, mit Glasplatten zu. Nach weiteren sechs Wochen konnte bei allen Gläsern, es wurden insgesamt deren 15 in den Versuch einbezogen, eine kräftige Mykorrhizainfektion festgestellt werden. In diesem Zeitpunkt konnte mit dem eigentlichen Versuch begonnen

werden. Fünf Gläser wurden mit der P 3N K- und fünf Gläser mit der $P \frac{N}{100}$ K-Lösung gedüngt (vgl. Tabelle 1), während fünf Gläser als Kontrolle keinen Dünger erhielten.

Schon nach einem Monat bonitierte man das Wurzelwerk auf den Mykorrhizabefall. Es wurde dabei folgendermaßen vorgegangen: Von den Wurzeln eines Stecklings, welche mit fließendem Wasser von allen Torfmullresten befreit wurden, stellte man drei mikroskopische Präparate her. Man legte sie zu diesem Zweck auf einen Objektträger in einen Tropfen Lactophenol-Baumwollblau (Milchsäure 20 %, Phenol 20 %, Glycerin 40 %, Wasser 20 %, Baumwollblau etwa 1 Promille) und bedeckte sie mit einem Deckglas. Dann erhitzte man das Präparat während ungefähr zwei Minuten und ließ es vor dem Mikroskopieren abkühlen. Von jedem der fünf Gläser wurden die Wurzeln von fünf Pflänzchen auf diese Art untersucht. Den Pilzbefall bonitierte man nach folgendem Schema:

Klassenwerte	Mykorrhizabefall
0	Im ganzen Präparat keine Mykorrhiza.
1	Spärlicher Mykorrhizabefall.
2	Ziemlich viel Mykorrhiza.
3	Viel Mykorrhiza.
4	Sehr viel Mykorrhiza.

Die Berechnung des Bonitationswertes erfolgte nach der gleichen Methode wie in Versuch 2. Es wurden folgende Ergebnisse ermittelt:

Tabelle 3

Der Einfluß der Stickstoffdüngung auf den Mykorrhizabefall

	Kontrolle ungedüngt	Nährlösung $\frac{P\ N\ K}{100}$	Nährlösung P 3 N K
Bonitationswerte	3,6	3,3	0,8

Diese drei Zahlen zeigen folgendes: Es zeigt sich ganz eindeutig, daß durch die Düngung die Mykorrhizainfektionen verhindert werden. Der Bonitationswert bei der P 3N K-Lösung ist ungefähr viermal kleiner als bei der $P \frac{N}{100}$ K-Lösung und der ungedüngten Kontrolle. Die Tatsache, daß die Werte bei der Kontrolle und der $P \frac{N}{100}$ K-Lösung annähernd gleich sind, beweist, daß es der Stickstoff ist, welcher den Mykorrhizabefall reduziert. Die Verhältnisse liegen hier also genau gleich wie bei der Wurzelknöllchenbildung der Leguminosen, wo auch der Stickstoff die Knöllchenzahl vermindert (GÄUMANN, JAAG und ROTH 1945, DIENER 1950). Bei den Leguminosen ist bekannt, daß durch den Stickstoff sowohl die Infektion wie auch die Vermehrung der Bakterien im Innern des Wirtes verhindert wird (STALDER 1951). Bei der Mykorrhiza scheint es so zu sein, daß vor allem die Infektionsdisposition des Wirtes zuungunsten des Pilzes verschoben wird. Der kleine Bonitationswert

ist nämlich darauf zurückzuführen, daß die neu gebildeten Wurzeln frei von Mykorrhiza sind, während sich in den älteren Wurzeln die üblichen Verdauungserscheinungen bemerkbar machen, ein Vorgang, welcher nicht spezifisch für eine starke Stickstoffdüngung ist. Auch die Wurzeln ungedüngter Pflanzen verlieren mit dem Alter die Mykorrhiza, doch werden die jungen Wurzeln schon bald nach ihrer Bildung wieder befallen, was bei Stickstoffdüngung nicht der Fall ist.

Diese Wirkung des Stickstoffes auf die Mykorrhiza darf aber nicht verallgemeinert werden, da die Versuche von Melin (1925) zeigen, daß die Mykorrhiza bei Kiefern durch den Stickstoff nicht verdrängt wird, sondern daß der Wirt die Aufnahme von Stickstoffverbindungen, vor allem die hochmolekularen, vermitteln kann. In Reinkultur, zusammen mit Kiefernpflanzen, entwickeln sich die *Hymenomyceten*-Mykorrhizen am besten, wenn ihnen Stickstoff in anorganischer oder organischer Form zugefügt wird. Auf stickstofffreiem Substrat sind sie dünner als auf den erwähnten Stickstoffquellen und gewöhnlich unverzweigt.

Welche Wirkung hat nun die Mykorrhiza für die Erikakultur? Die eine Annahme ist die, daß der Pilz sich fördernd auf das Pflanzenwachstum auswirkt, und die andere, daß er als Antagonist *Olpidium* und *Rhizophidium* fernhält, zwei Eigenschaften, welche im Zusammenhang mit dem Erikawurzelsterben, vorausgesetzt, daß sie der Pilz erfüllt, unbedingt als positiv zu bewerten sind. Im nächsten Abschnitt soll die erstgenannte Frage behandelt werden, diejenige der antagonistischen Wirkung wird später abzuklären versucht.

b) Die Wirkung der Mykorrhiza auf das Wachstum von *Erica gracilis*

In dieser Hinsicht sind schon verschiedentlich Versuche durchgeführt worden. Rayner (1915) ist der Ansicht, daß zwischen *Calluna vulgaris* und der Mykorrhiza eine obligate Symbiose besteht, daß also ein Gedeihen der Pflanze ohne Mykorrhizainfektionen nicht möglich ist. Freisleben (1934) hingegen kommt auf Grund seiner Untersuchungen, welche er mit sterilen Keimlingen durchführte, zum Schluß, daß wohl eine Wachstumsförderung durch gemeinsames Kultivieren mit Mykorrhizapilzen vorhanden ist, daß dieser Effekt aber nicht nur mit Mykorrhiza, sondern mit vielen anderen asymbiontischen Pilzen auch erreicht werden kann. Weitere Untersuchungen (Freisleben 1936) deuten darauf hin, daß diese Wachstumsförderung nicht etwa durch die Fähigkeiten, Luftstickstoff zu assimilieren, Torf abzubauen oder wachstumsfördernde Stoffe auszuscheiden, sondern durch eine Inaktivierung, Zerstörung oder Absorption von wachstumshemmenden Stoffen bewirkt wird.

Im Zusammenhang mit dem Erikawurzelsterben soll auf diese Fragen nicht näher eingegangen, sondern einfach geklärt werden, ob eine wachstumsfördernde Wirkung der Mykorrhiza auf bewurzelte Stecklinge auch unter natürlichen Wachstumsverhältnissen vorhanden ist. Jeder Faktor, welcher die Entwicklung der Wirtspflanze, in erster Linie diejenige des Wurzelwerkes begünstigt, trägt dazu bei, das Auftreten der Krankheit zu vermindern.

Versuch 4: Der Einfluß der Mykorrhiza auf das Wachstum von *Erica gracilis.*

Dieser Versuch umfaßte 12 Glastöpfe, welche ganz ähnlich vorbereitet wurden wie in Versuch 3. Sie wurden in vier Gruppen zu je drei Töpfen eingeteilt. Den Quarzsand deckte man mit folgenden Torfschichten ab:

Gruppe 1: unsteriler Juratorf,
Gruppe 2: steriler Juratorf,
Gruppe 3: steriler Juratorf + Mykorrhiza (Stamm MR mα),
Gruppe 4: steriler Juratorf + Mykorrhiza (Stamm MR vi[1]).

Die Stecklinge wurden am 24. Januar gesteckt. Nach ungefähr sechs Wochen waren sie eingewurzelt. Am 3. April bestimmte man die Länge der Pflänzchen. Die Durchschnittswerte betrugen für die verschiedenen Gruppen:

Gruppe 1	30,2 mm
Gruppe 2	38,3 mm
Gruppe 3	44,9 mm
Gruppe 4	35,9 mm

Eine gleichzeitig durchgeführte Kontrolle des Wurzelwerkes zeigte, daß bei Gruppe 2 und 4 keine Mykorrhizainfektion erfolgt ist, während Gruppe 1 einen spärlichen Besatz aufweist. Hingegen sind bei den Pflanzen der Gruppe 3 die Rindenzellen der Wurzeln mit Mykorrhiza vollgestopft. *Olpidium* konnte nur bei der Gruppe 1 vereinzelt festgestellt werden. Am 25. Juni, also nach einem halben Jahr, wurde der Versuch abgebrochen. Die Länge der Pflänzchen konnte nicht mehr als Kriterium für die Wirkung der Mykorrhiza auf dessen Wachstum in Betracht gezogen werden, weil nun die Unterschiede der Entwicklung in der Anzahl und der Länge der Seitentriebe zum Ausdruck kam. Die Durchschnittswerte des Sproßgewichtes waren die folgenden:

Gruppe 1	27,3 mg
Gruppe 2	46,6 mg
Gruppe 3	114,5 mg
Gruppe 4	34,2 mg

Die Kontrolle des Wurzelwerkes zeigte, daß bei allen 4 Gruppen mehr oder weniger starke Mykorrhizainfektionen erfolgt sind, welche aber zu spät aufgetreten sind, um die Wachstumsunterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen auszugleichen. Die Frage, ob der Pilz von außen her in die Töpfe gelangt ist oder ob er sich nach RAYNER (1915) aus systemischen Infektionen heraus entwickelt hat, bleibt dahingestellt. Auf Grund der erzielten Ergebnisse kann einfach gesagt werden, daß die Mykorrhiza das Wachstum von *Erica gracilis* fördert, analog den Versuchen von FREISLEBEN, welche mit Keimlingen durchgeführt wurden. Auffallend ist die Tatsache, daß der Stamm MR vi keine Infektion auszulösen vermochte und demzufolge auch keinen positiven Einfluß auf das Pflanzenwachstum ausübt. Im Gegenteil ist

[1]) MR vi = *Micelium radicis vitis idaeae.*

das Sproßgewicht noch etwas geringer als bei Gruppe 2. Eine nähere Kontrolle der Wurzeln zeigte, daß ein großer Teil der Rindenzellen abgestorben ist. Diese Beobachtung deckt sich mit derjenigen von Freisleben, welcher feststellte, daß der Stamm MR vi unter bestimmten Voraussetzungen sich nicht mehr als Symbiont, sondern als Parasit äußert.

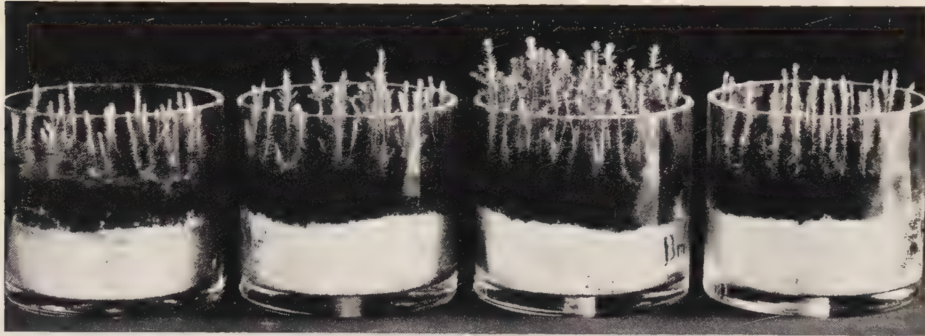


Abb. 8. Der Einfluß der Mykorrhiza auf das Wachstum von *Erica gracilis*. Von links nach rechts: unsteriler Torf, steriler Torf, steriler Torf + MR mα, steriler Torf + MR vi

Weiter ist zu bemerken, daß sich anfänglich die Pflanzen der Gruppe 1 am besten entwickelten. Diejenigen der anderen drei Gruppen zeigten deutliche Absterbeerscheinungen; die Nadeln verfärbten sich teilweise rot und fielen ab. Dieser Zustand dauerte etwa zwei Wochen, worauf dann zuerst die Pflanzen der Gruppe 3 und dann auch diejenigen der Gruppen 2 und 4 neue Triebe bildeten und diejenigen der Gruppe 1 überflügelten. Vermutlich wurden durch das Sterilisieren des Torfes bei 120 ^{0} C, wie das schon Freisleben (1936) erwähnt, pflanzenschädliche Abbauprodukte gebildet, welche zuerst weiter abgebaut oder mit dem Gießwasser ausgeschwemmt werden mußten.

Zwischen der Wachstumsförderung durch die Stickstoffdüngung und derjenigen durch die Mykorrhiza besteht insofern ein großer Unterschied, als der Stickstoff den Sproß begünstigt, die Entwicklung des Wurzelwerkes aber hemmt, während der Mykorrhizapilz sowohl den Sproß als auch die Wurzeln zu einem vermehrten Wachstum anregt. In diesem Versuch zum Beispiel waren die Wurzeln der Gruppe 3 etwa fünfmal besser entwickelt als bei den übrigen Versuchsgruppen.

Im Hinblick auf die Tatsache, daß die Mykorrhiza sowohl den Sproß wie auch die Wurzeln günstig beeinflußt, könnte nun angenommen werden, daß es möglich ist, durch einen kräftigen Mykorrhizazusatz zum Torfmull dem Erikawurzelsterben weitgehend vorzubeugen. So vielversprechend dieses Vorgehen zu sein scheint, darf nicht vergessen werden, daß Versuch 4 nie gedüngt wurde. Dies ist insofern für die Praxis entscheidend, als in Versuch 3 gezeigt werden konnte, daß die Mykorrhiza infolge der Stickstoffdüngung an der Infektion der Wurzeln verhindert wird. Daher sind auch die Ergebnisse des nächsten Versuches negativ ausgefallen.

Versuch 5: Die Wirkung der Mykorrhiza auf *Erica gracilis* unter den üblichen Kulturverhältnissen.

Am 3. April wurden je 50 einjährige Erikapflanzen in Juratorf mit einem Zusatz von Mykorrhiza Stamm MR m α bzw. Stamm MR m β[1]) eingetopft. 50 Pflanzen erhielten keine Mykorrhiza und dienten als Kontrolle. Als sich am 23. Juli noch keine Wachstumsunterschiede bemerkbar machten, wurden die Wurzeln mikroskopisch untersucht. Sowohl bei den Pflanzen mit Mykorrhizazusatz als auch bei der Kontrolle konnte der Mykorrhizapilz nur ganz vereinzelt gefunden werden. Schon die relativ geringen Düngermengen, wie sie einjährigen Pflanzen verabfolgt werden, haben genügt, um die Infektion zu verhindern.

Mit der Mykorrhiza kann man also in der Praxis nicht rechnen. Sie verliert an Bedeutung, sobald die Erikapflanze in Kultur genommen wird. Es hat gar keinen Sinn, das Erikawurzelsterben dadurch verhüten zu wollen, daß man den Torf mit Mykorrhiza anreichert, da dieser Pilz infolge der Stickstoffdüngung gar nicht zur Wirkung kommen kann. Dazu wird sein günstiger Wachstumseinfluß, wenn leider auch nur einseitig, durch die Stickstoffdüngung bei weitem überboten. Mit der Mykorrhiza allein ist es nämlich, wie die Ergebnisse der Versuche 8 und 9 zeigen, nicht möglich, marktgängige Pflanzen zu erzeugen, da diese zwar gesund sind, aber Hungersymptome aufweisen. Schon aus diesem Grund kann trotz der ungünstigen Beeinflussung des Wurzelwachstums und der dadurch bewirkten Gefahrensteigerung im Hinblick auf das Erikawurzelsterben auf den Stickstoff nicht verzichtet werden. Die Bedeutung des Symbionten kommt nur unter natürlichen Standortsverhältnissen zum Ausdruck, wo die vorhandenen Nährstoffe in so geringen Mengen vorhanden sind, daß auch die kleinste Wachstumsbegünstigung sich auswirkt. Ob der Mykorrhiza wenigstens bei der Erikavermehrung, also bei Stecklingspflanzen, irgendwelche praktische Bedeutung zukommt, bleibt abzuwarten.

c) Die Wirkung auf den *Olpidium*- und den *Rhizophidium*befall

Versuch 4 hat gezeigt, in welchem Ausmaß der Stickstoff den Mykorrhizabefall der Wurzeln beeinflußt. Es soll nun geklärt werden, wie sich *Olpidium* und *Rhizophidium* gegenüber der Stickstoffdüngung verhalten. Wird die Infektionsdisposition des Wirtes verschoben, und wenn ja, in welcher Richtung? Diese Fragen lassen sich jedoch nicht so leicht beantworten wie diejenigen in den Versuchen 4 und 5, weil sich die beiden Parasiten nicht auf künstlichen Nährsubstraten züchten lassen. Man ist also auf Spontaninfektionen angewiesen. Darum mußte der Versuch den Verhältnissen in der Praxis angepaßt werden.

Versuch 6: Die Wirkung der Stickstoffdüngung auf den Befall durch *Olpidium* und *Rhizophidium* (Teilergebnisse von Versuch 8).

Die Anordnung dieses Versuches war sehr einfach. Während fast zweier Jahre wurden 50 Erikapflanzen in Tontöpfen mit der P N K-Nährlösung

[1]) MR mβ = weitere Isolation aus *Vaccinium myrtillus*.

gedüngt, während 50 weitere Pflanzen keinen Dünger erhielten. Periodisch untersuchte man das Wurzelwerk unter dem Mikroskop und bonitierte den *Olpidium*- und den *Rhizophidium*befall. Zu diesem Zweck ging man genau gleich vor wie bei der Bonitierung des Mykorrhizabefalles. Es wurden auch die gleichen Klassengrenzen verwendet. Die beiden Pilze wurden nicht einzeln, sondern gemeinsam bonitiert, da es gar nicht immer einfach ist, sie auf den ersten Anblick hin voneinander unterscheiden zu können. Im Sommer des zweiten Jahres ermittelte man folgende Bonitationswerte:

Kontrolle ungedüngt	0,36
mit der P N K-Lösung gedüngt	1,76

Die beiden Zahlen zeigen ganz eindeutig, daß durch die Düngung (nach Versuch 8 ist es allein der Stickstoff) der Befall durch diese beiden Parasiten stark gefördert wird, und zwar, wie die mikroskopischen Untersuchungen gezeigt haben, betrifft das sowohl *Olpidium* wie auch *Rhizophidium*. Es zeigt sich also auch hier wieder, wie ungünstig sich der Stickstoff in der Erikakultur auswirkt, indem er in jeder Beziehung das Absterben der Pflanzen fördert. Die genaue Ursache, welche zu dieser erhöhten Infektionshäufigkeit führt, läßt sich nicht ohne weiteres klären. Die Schwierigkeiten, mit welchen man zu tun hat, sind durch den Umstand bedingt, daß man nicht mit Reinkulturen von diesen beiden Pilzen arbeiten kann, sondern auf Spontaninfektionen angewiesen ist. Es können jedoch zwei Argumente zur Diskussion gestellt werden:

Es ist einmal möglich, daß es sich um eine Erhöhung der Infektionsanfälligkeit handelt, daß also durch den Stickstoff die Disposition des Wirtes gegenüber *Olpidium* und *Rhizophidium* gerade im entgegengesetzten Sinn verschoben wird, als das bei der Mykorrhiza der Fall ist. Diese Ansicht darf aus dem Grund nicht unbeachtet gelassen werden, da in der Phytopathologie Beispiele von erhöhter Anfälligkeit durch den Stickstoff bekannt sind. So weiß man, um nur ein Beispiel zu erwähnen, daß zwischen der Anfälligkeit der Kartoffel gegenüber *Phytophthora infestans* und dem Stickstoffgehalt der Nährlösung eine direkte Beziehung besteht.

Die andere Möglichkeit wäre die, daß zwischen *Olpidium* und *Rhizophidium* einerseits und der Mykorrhiza andererseits antagonistische Beziehungen bestehen. Auch diese Frage läßt sich nicht ohne weiteres abklären, da keine Kulturversuche in vitro durchgeführt werden können. Folgende Beobachtung läßt aber das zweite Argument als zutreffender erscheinen. Es konnte bei der Kontrolle der annähernd 800 Präparate nie festgestellt werden, daß Mykorrhiza und einer der beiden Parasiten in der gleichen Zelle vorhanden gewesen wären. Selbst wenn in einer Zelle die Mykorrhiza schon in Auflösung begriffen ist, kann sie weder durch *Olpidium* noch durch *Rhizophidium* befallen werden. Eine weitere Beobachtung, welche aber für die Richtigkeit des ersten, wie auch für diejenige des zweiten Argumentes sprechen kann, ist die Tatsache, daß in einer Versuchsreihe mit viel Mykorrhiza stets wenig *Olpidium* und *Rhizophidium* gefunden werden kann, während bei einem geringen Mykorrhizabesatz die beiden Parasiten stark vertreten sind.

d) Die Wirkung des *Olpidium*- und *Rhizophidium*befalles auf das Wachstum von *Erica gracilis*

Diese Frage wurde schon weitgehend durch die Untersuchungen von Osterwalder, Schütz und Vogel geklärt. Diese Autoren konnten das Erikawurzelsterben jederzeit hervorrufen, indem sie gesunde Pflanzen in Torf einpflanzten, welcher mit *olpidium*kranken Wurzeln versetzt war. Während die Pflanzen ohne Wurzelzusatz fast ohne Ausnahme gesund blieben, erkrankten diejenigen, bei denen man dem Torf kranke Wurzeln zufügte, zu ungefähr 80 %. Durch weitere Untersuchungen wurde diese Frage näher verfolgt und im Ausmaß eines Tastversuches zudem die Kombination von Stickstoffdüngung und *Olpidium* auf die Pflanze einwirken gelassen. Zu diesem Zweck verwendete man einjährige Erikapflanzen in Tontöpfen von 6 cm Durchmesser. Die Anordnung des Versuches war die folgende:

Versuch 7: Der Einfluß des Stickstoffes auf *Olpidium* und *Rhizophidium*.

Versuchsreihe I	Versuchsreihe II
ungedüngt	gedüngt
Gruppe 1: Torf steril	Gruppe 3: Torf steril
Gruppe 2: Torf steril + Olpidium-Torf 1 : 1	Gruppe 4: Torf steril + Olpidium-Torf 1 : 1

Jede Gruppe umfaßte eine Terrine mit 10 Töpfen. Die Gruppen der Versuchsreihe II wurden mit der P N K-Lösung gedüngt. Nach zwei Monaten wurde das Wurzelwerk bonitiert. Es gelangte folgendes Schema zur Anwendung:

Klassenwerte	Wurzelentwicklung
0	Am Torfballen äußerlich keine Wurzeln sichtbar.
1	Die Wurzeln stechen vereinzelt durch.
2	Ungefähr ein Drittel des Topfballens ist mit Wurzeln bedeckt.
3	Ungefähr zwei Drittel des Topfballens sind mit Wurzeln bedeckt.
4	Der ganze Topfballen ist mehr oder weniger mit Wurzeln bedeckt.
5	Das Wurzelwerk überzieht als dichter filziger Belag den ganzen Topfballen.

Man berücksichtigte aber nicht nur die Entwicklung, sondern auch die Farbe der Wurzeln. Wenn mehr als die Hälfte der Wurzeln nicht weiß, sondern bräunlich verfärbt war, wurde bei der Bewertung ein Punkt abgezogen. Die ermittelten Werte sind die folgenden:

Tabelle 4

Versuchsgruppen	Versuchsreihe I ungedüngt	Versuchsreihe II gedüngt
Gruppen 1 u. 3 (ohne *Olpidium*)	4,2	2,2
Gruppen 2 u. 4 (mit *Olpidium*)	3,1	1,7

Die Zahlen in Tabelle 4 sind eindeutig. In Versuchsreihe I und Versuchsreihe II sind die Wurzeln der Pflanzen mit *Olpidium* deutlich schlechter als diejenigen ohne *Olpidium*. Dieser Pilz (*Rhizophidium* konnte in diesem Versuch nicht festgestellt werden) ist also sicher parasitär und zerstört das Wurzelgewebe. Bezeichnend ist aber, daß die hemmende Wirkung des Stickstoffes auf das Wurzelwerk stärker zum Ausdruck kommt, als der Parasitismus durch *Olpidium*. Diese Tatsache erhärtet die Hypothese, daß der Stickstoff die Pflanzen für das Absterben disponiert und daß es dann nur noch eines auslösenden Faktors, eben jener Parasiten bedarf, um das Erikawurzelsterben in Gang zu bringen. Die Krankheit wird sich um so stärker manifestieren, je stärker das Wurzelwerk vorher durch den Stickstoff gehemmt worden ist, eine Tatsache, welche aus Tabelle 4 klar ersichtlich ist. Der geringste Bonitationswert wurde nämlich bei den Pflanzen der Gruppe 2 in Versuchsreihe II erzielt.

III. Der Einfluß der Stickstoffdüngung auf das Erikawurzelsterben unter praktischen Versuchsbedingungen (Praxisversuche)

An Hand der Ergebnisse der durchgeführten Versuche kann gezeigt werden, daß die Ursache des Erikawurzelsterbens äußerst komplexer Natur ist und daß verschiedene Faktoren im Spiele sind, welche zueinander in enger Beziehung stehen und in einem Zusammenspiel von Actio und Reactio gegenseitig miteinander verknüpft sind. Es handelt sich nicht nur um ein rein phytopathologisches Problem, sondern physiologische und kulturtechnische Fragen spielen eine große Rolle, ohne deren Berücksichtigung man mit den Untersuchungen über das Erikawurzelsterben nicht weiterkommt. Vor allem hat es sich gezeigt, daß die Düngung, in erster Linie der Stickstoff, in diesen Faktorenkomplex entscheidend eingreift. Es wurden deshalb verschiedene Kleinversuche angesetzt. Diese dienten der Klärung verschiedener Teilfragen, indem nach Möglichkeit nur eine Unbekannte untersucht wurde, während man die anderen Faktoren außer acht ließ. Aber kommt man wirklich durch eine Synthese all dieser Teilgeschehnisse zu einem wahren Bild über die kausalen Zusammenhänge des Erikawurzelsterbens? Spielen sich nicht infolge der gegenseitig engen Verknüpfung all dieser Faktoren Vorgänge ab, welche sich auf diese Art nicht erfassen lassen und deren Auswirkung erst auf Grund dieses Zusammenspieles möglich ist? Es wurden deshalb praktische Versuche durchgeführt, die Pflanzen also Bedingungen ausgesetzt, wie dies in der Praxis üblich ist. Auf diese Art ist es möglich, all diese Faktoren gleichzeitig auf die Pflanze einwirken zu lassen, welche im Hinblick auf das

Erikawurzelsterben wichtig zu sein scheinen (*Olpidium, Rhizophidium,* Mykorrhiza, Düngung, übrige Kulturmaßnahmen, Standortsverhältnisse, Witterungsverhältnisse usw.). Die Durchführung solcher Versuche hat aber nur dann einen Sinn, wenn durch möglichst häufige Kontrollen laufend die Auswirkung dieses Vorgehens auf die Pflanze ermittelt wird. Zu diesem Zweck wurden ständig die Entwicklung des Wurzelwerkes, dessen Befall durch *Olpidium, Rhizophidium* und Mykorrhiza, die Farbe des Sprosses und dessen Entwicklung, die Blühwilligkeit und der Blühtermin, wie auch die Anzahl der abgestorbenen Pflanzen ermittelt, sei es lediglich durch Stichproben oder sei es durch eingehende Bonitationen. Die Durchführung solcher Versuche hat zudem den Vorteil, daß es ohne Schwierigkeiten möglich ist, eine große Anzahl von Pflanzen in die Untersuchungen einzubeziehen, was die Zuverlässigkeit der Ergebnisse erhöht. In diesem Sinn gelangten zwei Versuche zur Durchführung.

Versuch 8: Der Einfluß der Stickstoffdüngung auf das Erikawurzelsterben (Praxisversuch).

Der Versuch umfaßte sechs Versuchsgruppen zu je 50 Pflanzen. Die Kultur- und Pflegemaßnahmen (die Düngung ausgenommen) waren die gleichen, wie sie unter schweizerischen Verhältnissen in der Praxis zur Anwendung gelangen. Folgende Düngerlösungen wurden in den Versuch einbezogen: $\frac{PNK}{10}$, $P\frac{N}{10}K$, $\frac{P}{10}NK$, $PN\frac{K}{10}$ und PNK. Eine Versuchsgruppe, welche nie gedüngt wurde, diente der Kontrolle. Mit dem Düngen wurde im ersten Jahr begonnen und im zweiten Jahr mit den gleichen Düngerlösungen weitergefahren. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tabelle 5 enthalten und sollen kurz besprochen werden.

Tabelle 5 Der Einfluß der Düngung

Versuchsreihen	28. Januar		24. April				28. Mai		
	Spross-entwicklung	Abgestorben	Spross-entwicklung	Wurzel-entwicklung	Wurzel / Spross	Abgestorben	Spross: Farbe	Spross: Entwicklung	Abgestorben
Kontrolle ungedüngt	4,9	0	4,2	3,3	0,78	0	4,0	4,0	0
$\frac{PNK}{10}$	4,8	1	4,1	3,0	0,73	1	4,7	4,3	1
$P\frac{N}{10}K$	4,8	2	3,8	3,1	0,81	2	4,2	4,1	3
$\frac{P}{10}NK$	4,7	0	3,7	3,0	0,81	0	4,9	4,4	2
$PN\frac{K}{10}$	4,4	3	3,2	2,8	0,87	6	4,6	4,7	6
PNK	3,9	7	2,9	2,5	0,86	7	4,9	4,4	7

Für das zahlenmäßige Erfassen der Farbe und der Sproßentwicklung konnte während beider Jahre das gleiche Bewertungsschema verwendet werden. Zu diesem Zweck war man aber gezwungen, die Klassengrenzen immer wieder neu festzulegen. Dies geschah jeweils vor der Bonitation, indem man die beste Pflanze mit 5 und die schlechteste mit 1 bewertete. Innerhalb dieses Bereiches wurde eine sinngemäße Einteilung der verschiedenen Stadien in drei weitere Klassen vorgenommen (2, 3 und 4). Die abgestorbenen Pflanzen wurden nicht mit Null bewertet, sondern man führte sie getrennt auf.

Aus den ermittelten Zahlen ist zu entnehmen, daß am 28. Januar der Sproß bei der Kontrolle, welche nie gedüngt wurde, am besten entwickelt war. Je größer die Stickstoffmenge, um so größer ist der Bonitationswert. Diese Tatsache ist darauf zurückzuführen, daß sich schon im ersten Jahr das Wurzelsterben bemerkbar machte, und zwar um so stärker, je mehr gedüngt wurde. Selbst am 24. April haben sich diese Verhältnisse noch nicht stark geändert. Am 28. Mai aber können bei den Versuchsreihen mit den vollen Stickstoffgaben die höheren Bonitationswerte erzielt werden, als bei denjenigen, welche nur mit dem zehnten Teil der normalen Stickstoffgabe oder auch gar nicht gedüngt wurden. Im Verlauf der Vegetationsperiode werden diese Unterschiede immer größer, trotz der immer mehr zunehmenden Absterbeerscheinungen bei den drei unteren Reihen. Die Tatsache, daß vor allem bei den Pflanzen, welche mit der PNK-Lösung gedüngt wurden, die Werte trotz des Wurzelsterbens nicht so rasch abnehmen, ist darauf zurückzuführen, daß, wie schon erwähnt, die abgestorbenen Pflanzen nicht in die Bewertung einbezogen, sondern getrennt aufgeführt wurden. In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, daß diejenigen Eriken, welche trotz reichlicher Stickstoffversorgung keine Krankheitssymptome aufwiesen, sich zu kräftigen und buschigen Pflan-

auf das Erikawurzelsterben *Tabelle 5*

28. Juni					4. Juli		6. August					12. Oktb.
Spross		Wurzel entwicklung	Wurzel / Spross	Abgestorben	Mykorrhiza	Olpidium	Spross		Wurzelentwicklung	Wurzel / Spross	Abgestorben	Abgestorben
Farbe	Entwicklung						Farbe	Entwicklung				
4,4	3,9	3,6	0,92	1	2,56	0,36	3,1	2,9	3,6	1,28	1	1
4,4	4,5	3,2	0,72	4	0,90	1,20	4,0	3,9	4,0	1,03	4	4
4,1	4,3	3,2	0,78	4	1,00	1,13	4,0	4,0	3,8	0,95	4	4
4,8	4,0	3,0	0,75	4	0,33	1,93	4,9	4,3	2,8	0,65	4	7
4,8	4,8	2,7	0,56	8	0,23	1,73	5,0	4,8	1,9	0,39	8	9
4,7	4,6	2,5	0,53	8	0	1,76	4,8	4,5	2,2	0,44	11	14

zen entwickelten. Es ist ja kennzeichnend für diese Krankheit, daß trotz der gleichen Standortsverhältnisse und Pflegemaßnahmen ein Teil der Pflanzen überhaupt keine Symptome zeigt, während der andere Teil sein Wachstum einstellt, gelbe Triebe bekommt und abstirbt.

Zurückkommend auf die Ergebnisse von Versuch 8 ist zu erwähnen, daß sich die Farbe des Sprosses gleich verhält wie dessen Entwicklung. Während bei der Kontrolle, welche nicht gedüngt wurde, und bei der $\frac{N}{10}$-Gabe die Pflanzen deutliche Hungersymptome aufweisen, welche sich unter anderem auch in einer gelblichen Farbe und der sogenannten „Rotnadligkeit" äußern, kennzeichnen sich die Eriken der drei unteren Reihen durch ein sattes Grün der Triebe. Im Hinblick auf die Entwicklung und die Farbe des Sprosses ist zu sagen, daß die Ergebnisse dieses Versuches mit dem Versuch 1 einwandfrei übereinstimmen.

Das gleiche gilt für die Entwicklung des Wurzelwerkes. Schon am 24. April, zu Beginn der Entwicklungsperiode des zweiten Jahres, zeigt es sich, daß bei den vollen Stickstoffgaben die Wurzelmasse geringer ist, als bei der Kontrolle und den beiden $\frac{N}{10}$-Reihen und daß diese Unterschiede sich im Verlauf des Sommers ständig vergrößern. Wir haben also beim Praxisversuch die gleiche Diskrepanz zwischen Wurzel und Sproß, wie das schon bei Versuch 1 zum Ausdruck gekommen ist. Die Berechnung des Wurzel/Sproß-Verhältnisses zeigt dies deutlich. Am 24. April ist es zwar bei der PNK-Reihe noch eher günstiger als bei der Kontrolle, aber nicht darum, weil etwa mehr Wurzelmasse vorhanden gewesen wäre, sondern einzig deshalb, weil der Sproß infolge von Absterbeerscheinungen an und für sich einen geringen Bonitationswert erzielt hat. Im Verlauf des Sommers verschiebt sich dieses Verhältnis immer mehr zuungunsten des Stickstoffes. Je ungünstiger dieses Verhältnis wird, um so größer sind die Absterbequoten. Durch den Stickstoff werden, wie schon erwähnt, die Pflanzen für das Erikasterben prädisponiert. Am 12. Oktober sind daher bei der PNK-Reihe 14 Pflanzen abgestanden, während dies bei der Kontrolle nur bei einer und bei den $\frac{N}{10}$-Reihen nur bei vier Pflanzen der Fall ist. Eine Erklärung, warum bei der PN $\frac{K}{10}$-und bei der $\frac{P}{10}$NK-Reihe weniger Pflanzen abgestorben sind als bei der PNK-Reihe, kann nicht gefunden werden.

Wichtig ist in diesem Zusammenhang auch der Wurzelbefall durch die Mykorrhiza wie auch derjenige durch *Olpidium* bzw. durch *Rhizophidium*. Die Ergebnisse zeigen eine völlige Übereinstimmung mit denjenigen der Versuche 3 und 6. Während für die Mykorrhiza bei der Kontrolle ein Wert von 2,56 ermittelt wurde, konnte bei den Pflanzen der PNK-Reihe überhaupt keine Mykorrhiza gefunden werden. Dafür ist der Befall durch *Olpidium* und *Rhizophidium* auf einen Wert von 1,76 angestiegen, während er bei der Kontrolle nur 0,36 beträgt, also ungefähr fünfmal kleiner ist. Schon durch

eine Stickstoffmenge von einem Zehntel der PNK-Lösung sinkt der Mykorrhizabefall um fast ein Drittel, während der *Olpidium-* bzw. *Rhizophidium*befall auf das Dreifache ansteigt. Es ist wichtig, daß mit diesem Versuch gezeigt werden kann, wie schon durch eine relativ geringe Stickstoffmenge das biologische Gleichgewicht zwischen Erika und Mykorrhiza empfindlich gestört wird, wodurch man gewissen Parasiten, wie *Olpidium* und *Rhizophidium* Infektionsmöglichkeiten schafft.

Mit diesen Versuchen konnten wohl die grundlegenden Zusammenhänge für das Erikawurzelsterben eingehend untersucht und die Ergebnisse der Kleinversuche bestätigt werden, hingegen konnte in der Frage über die Verhütung dieser Krankheit bis jetzt keine Lösung gefunden werden. Wie schon zu Beginn des Versuches vermutet wurde, konnten die Pflanzen der $\frac{PNK}{10}$ wie auch diejenigen der $P\frac{N}{10}K$-Reihe, bei welchen es gelang, durch geringe Stickstoffgaben das Erikawurzelsterben auf ein erträgliches Maß zu senken, den Anforderungen des Handels unter keinen Umständen genügen, da sie starke Hungersymptome aufwiesen. Es stellt sich nun die Frage, ob es gelingt, durch eine mäßige Erhöhung der Stickstoffgaben Pflanzen zu erhalten, welche zwar zu einem noch tragbaren Prozentsatz absterben, sich aber noch als marktgängig erweisen. Obwohl auf Grund der Erkenntnisse von Versuch 3 von einem solchen Kompromiß nicht viel erhofft werden kann, da ja schon geringe Stickstoffmengen $\left(\frac{N}{10}\right)$ zwar nicht die Absterbequote, jedoch den *Olpidium*befall stark erhöhten, wurde dieser Versuch der Vollständigkeit halber durchgeführt.

Versuch 9: Kann durch eine Regulierung der Stickstoffdüngung eine Lösung in der Frage des Erikawurzelsterbens gefunden werden?

Um diese Frage zu klären, erhöhte man den Stickstoffgehalt der Nährlösung von einem Zehntel auf ein Drittel der normalen Menge. Um die Ergebnisse von Versuch 8 noch einmal zu überprüfen, wurden noch weitere Versuchsreihen angegliedert. Folgende Düngerlösungen kamen zur Anwendung: P 3N K, PNK, $P\frac{N}{3}K$, $\frac{PNK}{3}$. Im Gegensatz zu Versuch 8 wurde mit dem Düngen erst im zweiten Jahre begonnen, und zwar am 23. April. Bis zum 18. Juli verabreichte man zehn Gaben. Am 31. August wurde nach einer Unterbrechung weitergefahren und bis zum 29. September noch achtmal gedüngt. Die Pflanzen, 50 je Versuchsreihe, bonitierte man nach den schon erwähnten Gesichtspunkten.

Obwohl mit der $P\frac{N}{3}K$- und der $\frac{PNK}{3}$-Lösung relativ gesunde Pflanzen erzielt werden konnten, kann mit der Regulierung der Stickstoffzufuhr keine Lösung des Problems gefunden werden. Die Pflanzen weisen Hungersymptome auf, sobald man die normale Stickstoffmenge vermindert. Die

Tabelle 6

Der Einfluß der Stickstoffdüngung auf das Erikawurzelsterben

	Kontrolle	$\frac{PNK}{3}$	$P\frac{N}{3}K$	PNK	P3NK
			24. April		
Sproß: Farbe	—	—	—	—	—
Entwicklung	4,0	3,9	3,8	3,8	3,9
Wurzel: Entwicklung	2,9	3,1	2,4	2,6	2,9
$\frac{\text{Wurzel}}{\text{Sproß}}$	0,71	0,79	0,63	0,74	0,74
Mykorrhiza	—	—	—	—	—
Olpidium	—	—	—	—	—
Anzahl abgestorbene Pflanzen	0	0	0	0	0
			28. Mai		
Sproß: Farbe	3,2	3,9	4,0	4,3	3,9
Entwicklung	3,2	3,6	3,8	4,3	4,0
Wurzel: Entwicklung	—	—	—	—	—
$\frac{\text{Wurzel}}{\text{Sproß}}$	—	—	—	—	—
Mykorrhiza	—	—	—	—	—
Olpidium	—	—	—	—	—
Anzahl abgestorbene Pflanzen	0	0	0	1	1
			28. Juni		
Sproß: Farbe	3,6	3,7	3,7	4,5	4,6
Entwicklung	3,2	3,7	4,0	4,5	4,3
Wurzel: Entwicklung	1,6	2,4	2,2	1,7	1,3
$\frac{\text{Wurzel}}{\text{Sproß}}$	0,50	0,63	0,55	0,38	0,29
Mykorrhiza	—	—	—	—	—
Olpidium	—	—	—	—	—
Anzahl abgestorbene Pflanzen	1	1	1	1	2
			27. Juli		
Sproß: Farbe	—	—	—	—	—
Entwicklung	—	—	—	—	—
Wurzel: Entwicklung	—	—	—	—	—
$\frac{\text{Wurzel}}{\text{Sproß}}$	—	—	—	—	—
Mykorrhiza	2,06	1,03	0,58	0	0
Olpidium	0,56	1,23	1,20	2,33	2,80
Anzahl abgestorbene Pflanzen	—	—	—	—	—
			6. August		
Sproß: Farbe	3,0	4,0	4,0	4,5	4,5
Entwicklung	1,3	3,5	4,0	4,3	3,7
Wurzel: Entwicklung	3,7	3,9	3,6	2,4	1,6
$\frac{\text{Wurzel}}{\text{Sproß}}$	2,81	1,11	0,91	0,55	0,42
Mykorrhiza	—	—	—	—	—
Olpidium	—	—	—	—	—
Anzahl abgestorbene Pflanzen	1	1	1	2	4

Zahlen der Tabelle 6 bestätigen diejenigen der Tabelle 5. Der Stickstoff fördert die Entwicklung des Sprosses, hemmt aber das Wurzelwachstum. Am 6. August ist jedoch der Sproß bei der P 3N K-Reihe geringer als bei der PNK und der P $\frac{N}{3}$ K-Reihe, weil sich infolge der übermäßigen Stickstoffzufuhr ausgeprägte Absterbeerscheinungen bemerkbar machten. Mit zunehmenden Stickstoffmengen wird im Hinblick auf das Erikawurzelsterben das Sproß/Wurzel-Verhältnis immer ungünstiger. Es sinkt am 6. August von 2,81 bei der Kontrolle auf 0,42 bei der P 3N K-Reihe. Die Mykorrhiza wird durch den Stickstoff vertrieben, während der *Olpidium-* und *Rhizophidium*-befall gefördert wird. Die Zahl der abgestorbenen Pflanzen ist zwar, wie nicht anders zu erwarten war, bei der P 3N K-Reihe am größten, doch sind ganz allgemein die Absterbequoten infolge der feuchten und kühlen Witterung während des vergangenen Sommers sehr klein.

Für die Blütenentwicklung ergeben sich die folgenden Werte (in Tabelle 6 nicht enthalten): Kontrolle 5,0; $\frac{PNK}{3}$-Reihe 4,4; P $\frac{N}{3}$ K-Reihe 4,5; PNK-Reihe 3,9; P 3N K-Reihe 3,1. Diese Zahlen zeigen, wie in Versuch 2 darauf hingewiesen wurde, daß es in erster Linie der Stickstoff ist, welcher den Zeitpunkt des Blütenansatzes reguliert.



Abb. 9. Die Wirkung des Stickstoffes auf die Entwicklung von *Erica gracilis*. Links: Kontrolle ungedüngt. Mitte: P N K. Rechts: P 3N K

IV. Diskussion der Ergebnisse

Die beschriebenen Versuche wurden unter dem Gesichtspunkt durchgeführt, daß die Zerstörung der Wurzeln durch *Olpidium* und auch durch

Rhizophidium auf keinen Fall die alleinige Ursache für das Erikawurzelsterben sein kann. Nur allein unter Berücksichtigung dieses parasitären Eingriffes kann nämlich keine Antwort auf die Frage gefunden werden, warum die Eriken wie auch *Calluna* unter den natürlichen Standortsverhältnissen diese Absterbeerscheinung selten aufweisen. Die Tatsache, daß bei solchen Pflanzen *Olpidium* nur vereinzelt gefunden werden kann, läßt vermuten, daß durch die Kulturbedingungen die Disposition der Pflanze gegenüber diesem Parasiten wie auch ganz allgemein gegenüber dem Erikasterben entscheidend auf die negative Seite hin verschoben, daß also ihre Anfälligkeit erhöht wird.

An Stelle von *Olpidium* und auch von *Rhizophidium* sind die Wurzeln von *Erica carnea* und auch von *Calluna vulgaris*, welche an ihren natürlichen Standorten gewachsen sind, von einer ekto- und auch endotrophen Mykorrhiza befallen, während *Erica gracilis* und *Calluna vulgaris*, sobald sie in Kultur genommen werden, trotz ursprünglichem Mykorrhizabesatz diesen Pilz bald verlieren. An Hand von Klein- wie auch von Praxisversuchen konnte eindeutig gezeigt werden, daß es in erster Linie die Stickstoffdüngung ist, welche diese Dispositionsverschiebung bewirkt, daß also die Probleme ähnlich liegen wie bei der Hemmung, der durch Bakterien bedingten Knöllchenbildung bei Leguminosen. Es wurde nachgewiesen, daß der Stickstoff insofern direkt auf die Erikapflanze einwirkt, als die Wurzelentwicklung stark gehemmt, der Sproß aber zu einem kräftigen und mastigen Wachstum angeregt wird. Das Verhältnis zwischen Wurzel und Sproß ist gestört, wodurch die ganze Pflanze in einen labilen Gleichgewichtszustand versetzt wird. Sie ist empfindlich auf Trockenheit und Düngung. Im Zusammenhang mit dem Erikawurzelsterben ist aber die Tatsache von größter Bedeutung, daß in diesem Zustand jeder parasitäre Angriff auf das Wurzelwerk sich katastrophal auswirkt. Das schwache Wurzelwerk wird noch mehr reduziert, so daß dessen Tätigkeit für die ohnehin großen Ansprüche des im Verhältnis zu den Wurzeln überdimensionierten Sprosses nicht mehr genügt, was unweigerlich zu Absterbeerscheinungen führt. Die primäre Ursache für das Erikawurzelsterben ist also nicht *Olpidium* und *Rhizophidium*, sondern eine durch Kulturmaßnahmen bewirkte Gleichgewichtsstörung des Pflanzenwachstums. Die beiden Parasiten sind lediglich mit einer Initialzündung zu vergleichen, welche die Absterbevorgänge auslösen.

Diese Ansicht wird weiterhin durch die Tatsache erhärtet, daß durch den Stickstoff der *Olpidium*- und *Rhizophidium*befall begünstigt wird. Erikapflanzen in einem stickstoffarmen Milieu werden selten von diesen Parasiten befallen, während bei reichlicher Stickstoffversorgung der Befall der Wurzeln stark zunimmt. Es sind also wiederum nicht die Parasiten, welche an und für sich über das Absterben entscheiden. Auch hier ist es der Stickstoff, welcher die Pflanze für den parasitären Angriff disponiert, sie gegen *Olpidium* und *Rhizophidium* anfällig macht.

Wie das im einzelnen vor sich geht, kann nicht ohne weiteres geklärt werden. Diese Dispositionsverschiebung der Pflanze gegenüber den Parasiten kann indirekter wie auch direkter Natur sein. Indirekt in dem Sinn, als die Mykorrhiza, die möglicherweise eine antagonistische Wirkung auf die beiden Parasiten ausübt, durch den Stickstoff an der Infektion der Wurzeln verhindert wird. Daneben ist eine direkte Einwirkung sehr wohl denkbar, indem einfach die Abwehrbereitschaft des Wirtes herabgesetzt wird. In erster Linie sind also die Kulturmaßnahmen und in zweiter Linie parasitäre Pilze für das Erikawurzelsterben verantwortlich. Es handelt sich also bei dieser Krankheit um ein typisches Beispiel, wie sich Störungen des biologischen Gleichgewichtes manifestieren können.

Im Hinblick auf die Verhütung dieses Absterbens besteht nun die fatale Kontroverse, daß man einerseits auf die Stickstoffdüngung nicht verzichten kann, da sattgrüne, buschige Pflanzen, welche zu einem ganz bestimmten Zeitpunkt blühen, vom Handel verlangt werden, daß man aber anderseits durch diese Maßnahme grob in ein fein abgestimmtes Gefüge zwischen Wirt und Symbionten eingreift, dieses stört, womit die Voraussetzungen für das Erikawurzelsterben geschaffen sind.

Es ist zu bemerken, daß im Versuchsjahr 1956 das Wurzelsterben in den schweizerischen Betrieben nur schwach aufgetreten ist. Das gleiche ist auch aus Tabelle 6 ersichtlich, wo die Eriken auch in den Stickstoffreihen nur zu einem geringen Prozentsatz abgestorben sind, obwohl von der Seite der Pflanze her alle Voraussetzungen für das Auftreten der Krankheit vorhanden waren. Die Ursache ist in der eher kühlen und regnerischen Witterung zu suchen, welche bewirkte, daß auch ein sehr stark dezimiertes Wurzelwerk den Transpirationsstrom noch aufrecht zu erhalten vermochte, so daß die Pflanzen nicht vertrockneten, sondern die Wurzeln sich nach jedem parasitären Angriff immer wieder erholen konnten. Wie schon erwähnt, ist das Absterben der Wurzeln nicht ein linear fortschreitender Vorgang, sondern ein beständiges Auf und Ab zwischen Wurzelzerstörung und Wurzelneubildung. Das Austrocknen der Triebe beginnt dann, wenn bei einer Pflanze im Zeitpunkt eines Wurzelminimums heiße Witterung und damit eine Erhöhung des Transpirationsstromes einsetzt, während sich Störungen in der Sproßentwicklung schon früh bemerkbar machen. Ein solches Zusammenspiel war im Versuchsjahr selten und darum war der Prozentsatz der abgestorbenen Pflanzen relativ gering. Ein weiterer Umstand mag auch der gewesen sein, daß *Olpidium* im großen ganzen in einem viel schwächeren Ausmaß aufgetreten ist als die Jahre vorher. Ob das mit der kühlen Temperatur während der Vegetationsperiode im Zusammenhang steht, ist denkbar.

Wie schon erwähnt, kommt man praktisch zu keinem Ziel, indem man einfach die Stickstoffgaben herabsetzt. Anderseits wäre es aber denkbar, daß es gelingt, das Absterben zu verhindern, indem man den die Krankheit auslösenden Faktor, nämlich *Olpidium* und *Rhizophidium* mit Fungiziden bekämpft. Man muß sich aber von vornherein im klaren sein, daß durch ein

solches Vorgehen das Übel nicht an der Wurzel gepackt wird, sondern daß man auf diese Weise einfach die Folgen von überspitzten Kulturmaßnahmen beseitigt.

Schon 1955 wurden Bekämpfungsversuche mit einer großen Anzahl verschiedenster Fungizide durchgeführt. Weitere Versuche zeigten, daß mit einem Oxychinolinpräparat gewisse Erfolge erzielt werden konnten, indem der *Olpidium*befall in den behandelten Reihen merklich reduziert werden konnte. Wegen des relativ schwachen Auftretens des Erikawurzelsterbens konnte nicht ermittelt werden, ob diese Maßnahme sich auch praktisch ausgewirkt hätte. Auf alle Fälle sind die Ergebnisse nicht eindeutig, so daß bis jetzt keines der geprüften Mittel empfohlen werden kann.

Mit diesen Untersuchungen ist es gelungen, näheren Einblick in die Zusammenhänge des Erikawurzelsterbens zu bekommen, und einige Fragen, welche sich dabei ergeben, klarzustellen. Wichtig ist die Erkenntnis, daß man es hier nicht in erster Linie mit einem mykologischen Problem, sondern mit einer Kulturkrankheit zu tun hat. Ob es möglich ist, trotz der Anforderungen, welche man an marktgängige Eriken stellt, eine Lösung in der Frage des Wurzelsterbens zu finden, bleibt abzuwarten.

Zusammenfassung

1. Das Erikawurzelsterben, wie es vor allem in schweizerischen Gärtnereibetrieben auftritt, ist in erster Linie eine Kulturkrankheit. Der parasitäre Angriff durch *Olpidium* spec. und durch einen Vertreter der Gattung *Rhizophidium* kann erst erfolgen, wenn dafür die notwendigen Voraussetzungen geschaffen sind.

2. Der Stickstoff prädisponiert die Pflanzen für das Wurzelsterben. Dies geschieht aus folgenden Gründen:

a) Die Stickstoffdüngung hemmt die Wurzelentwicklung, fördert aber das Sproßwachstum. Das Wurzel/Sproß-Verhältnis ist gestört, weshalb sich jede parasitäre Schädigung an den Wurzeln sofort auswirkt.

b) Durch den Stickstoff werden die Infektionen durch Mykorrhizapilze, welche einerseits das Wurzel- und das Sproßwachstum begünstigen und anderseits sehr wahrscheinlich die Wurzelzellen vor *Olpidium* und *Rhizophidium* schützen, verhindert.

c) Der Stickstoff fördert den Befall durch *Olpidium* und *Rhizophidium.*

3. Wohl ist es möglich, durch eine Verminderung der Stickstoffgaben dem Erikawurzelsterben vorzubeugen, doch sind solche Pflanzen unverkäuflich, weil sie zu früh blühen und zudem Hungersymptome aufweisen.

4. Versuche zur Bekämpfung von *Olpidium* und *Rhizophidium* wurden in größerem Umfange durchgeführt, haben aber noch keine eindeutigen Ergebnisse gezeigt.

Summary

1. The Erica root disease as it occurs in Swiss gardenings is in the first line a culture disease. The parasitic attack by *Olpidium* spec. and also by a species of the genus *Rhizophidium* can only result when the necessary conditions are given.

2. It has been proved, that for the following reasons the plants become susceptible for the Erica root disease by the nitrogen:

a) The fertilization with nitrogen inhibits the development of the roots but promotes the growth of the sprouts. The root/sprout relation is disturbed on account of which every parasitic damage on the roots takes effect at once.

b) By the nitrogen the infections through mycorrhiza fungi, which on the one side favour the growth of the roots and sprouts and on the other side probably protect the root cells of *Olpidium* and *Rhizophidium*, are inhibited.

c) The nitrogen compounds promote the infections by *Olpidium* and *Rhizophidium.*

3. It is possible indeed to prevent the Erica root disease by reducing the nitrogen doses, but those plants are unsaleable because they flourish too early and show deficiency symptoms.

4. Extended experiments have been carried out to control *Olpidium* and *Rhizophidium*, but they didn't show any satisfactory results till now.

Literaturverzeichnis

Christoph, H., 1921: Untersuchungen über die mykotrophen Verhältnisse der „Ericales“ und die Keimung von Pirolaceen. Beih. z. Bot. Zbl. **38**, 1. Abt., 115.

Diener, Th., 1950: Über die Bedingung der Wurzelknöllchenbildung bei *Pisum sativum.* Phytopath. Z. **16**, 129—170.

Freisleben, R., 1934: Zur Frage der Mykotrophie in der Gattung *Vaccinium.* Jb. wiss. Bot. **80**, 421—456.

— —, 1936: Weitere Untersuchungen über die Mykotrophie der Ericaceen. Jb. wiss. Bot. **82**, 413—459.

Gäumann, E., O. Jaag und St. Roth, 1945: Über einen Immunisierungsversuch mit Wurzelknöllchenbakterien bei Leguminosen. Ber. Schw. Bot. Ges. **55**, 270—277.

Knickmann, E., und W. Tepe, 1952/53: Jahresber. Lehr- u. Forschungsanstalt f. Wein-, Obst- u. Gartenbau, Geisenheim a. Rhein, 36.

Melin, E., 1925: Untersuchungen über die Bedeutung der Baummykorrhiza. Verlag v. Gustav Fischer, Jena.

Osterwalder, A., 1957: *Olpidium* in Wurzeln von *Erica gracilis* Salisb. Z. f. Pflanzenkrankheiten **64**.

— —, F. Schütz und W. Vogel, 1955: Ursache des *Erica*-Sterbens. Schweiz. Gärtnerzeit, **58**, Nr. 27, und Schweiz. Gartenbaublatt, 1955.

Rayner, M. C., 1915: Obligate symbiosis in *Calluna vulgaris*. Ann. of Bot. **29**, 97.

— —, 1925: The nutrition of mycorrhiza plants: *Calluna vulgaris*. British J. exp. Biol. Vol. II, 265—291.

Schaede, R., 1943: Die pflanzlichen Symbiosen. Verlag Gustav Fischer, Jena.

Schütz, F., 1946: Kultur- und Düngungsversuche mit *Erica gracilis*. Festschrift 25 Jahre Verein ehemaliger Oeschbergschüler, 29—31. Buchdruckerei Gassmann AG, Solothurn.

Stalder, L., 1951: Über Dispositionsverschiebungen bei der Bildung von Wurzelknöllchen. Phytopath. Z. **18**, 376—403.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich
Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann

Untersuchungen über die Umgrenzung der Arten in der Ascomycetengattung *Leucostoma*

Von

H. Kern

Mit 11 Abbildungen

Einleitung

In manchen Pilzgruppen hat nicht nur die Anordnung der höheren systematischen Einheiten, sondern auch die Umgrenzung der einzelnen Arten in jüngster Zeit wesentliche Änderungen erfahren. Neuere Untersuchungen über die Variabilität der Pilze und über den Wert der systematischen Kriterien haben zu Anschauungen geführt, die einen Umbruch des Systems bewirkten und deren Konsequenzen heute noch nicht abzusehen sind.

In der Gattung *Leucostoma* (Nit.) v. H. (syn. *Valsa* Fr. subgen. *Leucostoma* Nit.) gründet sich die Artumschreibung in herkömmlicher Weise auf die morphologischen Merkmale von Fruchtkörpern und Sporen und auf die systematische Stellung der Wirtspflanze. Es hat sich jedoch gezeigt, daß auf dieser Basis keine eindeutige Trennung der Arten möglich ist (Défago, 1935; Kern, 1955). Wir versuchten deshalb, durch vergleichende Untersuchung der morphologischen, physiologischen und parasitologischen Merkmale dieser Pilze zu einem besseren Verständnis ihrer Eigenarten und damit zu einer besseren Grundlage für die Artumgrenzung zu gelangen. Zu diesem Zweck mußte von jeder Art möglichst umfangreiches Material untersucht werden. Die untersuchten *Leucostoma*-Individuen und die daraus gewonnenen Einsporkulturen bezeichnen wir im folgenden als Stämme (vegetativ vermehrte Individuen, auch Biotypen, Rassen oder Formen genannt; vgl. Gäumann, 1951, S. 267).

1. KAPITEL

Die Gattung *Leucostoma* und ihre Stellung im System der Ascomyceten

Das System der Ascomyceten ist in den letzten Jahrzehnten stark umgebaut worden, und die Grundsätze für seinen Aufbau werden heute wesentlich anders bewertet als früher. Die in die Augen springenden grob morphologischen Merkmale der Fruchtkörper geben keine sicheren Aufschlüsse über die Zusammengehörigkeit verschiedener Pilze; sie können bei weit entfernt stehenden Gattungen ähnlich ausgebildet sein und werden überdies stark vom Bau des Substrates beeinflußt. Viele der historischen Familien und Gattungen haben sich deshalb als heterogen erwiesen, als man begann, den Bau und die Entwicklungsgeschichte der Fruchtkörper und die Einzelheiten in der Struktur der Fruchtschicht und im Bau der Asci genauer zu untersuchen (z. B. NANNFELDT, 1932; LUTTRELL, 1951; VON ARX und MÜLLER, 1954).

Die Gattung *Valsa* umfaßte in der Umgrenzung ihres Autors FRIES (Summa Veget. Scand. 2. Teil [1849], S. 410) eine große Zahl von Arten mit flach ausgebreitetem bis hervortretend-kegeligem, eine wechselnde Anzahl von Perithecien enthaltendem Stroma und mit würstchenartig gebogenen (allantoiden), farblosen oder bräunlichen Ascosporen und Konidien. Spätere Autoren (NITSCHKE, 1867; WINTER, 1887) gliederten die Gattung in zahlreiche Untergattungen und erhoben diese zum Teil zu eigenen Gattungen (SACCARDO, 1882). So unterscheidet WINTER (1887) die Untergattungen *Eutypa* Tul., *Endoxyla* Fuck., *Cryptovalsa* Ces. et de Not., *Cryptosphaeria* Grev., *Cryptosphaerella* Sacc., *Eutypella* Nit., *Euvalsa* Nit., *Leucostoma* Nit. und *Valsella* Fuck.

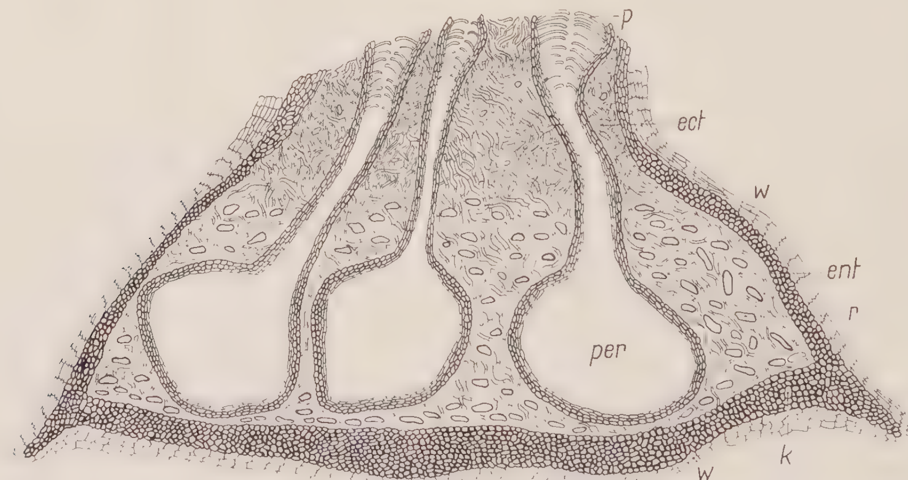


Abb. 1. Schnitt durch einen Fruchtkörper von *Leucostoma Persoonii* (Nit.) v. H. **k** Konzeptakel. **ent** lockeres Entostroma mit Resten der Wirtsgewebe **r. ect** Ectostroma. **per** Perithecien. **p** Periphysen. **w** Wirtsgewebe. Die Asci und Ascosporen, welche die ganze Höhlung der Perithecien ausfüllen, sind weggelassen. Vergr. 50 ×

Von Höhnel (1917, 1918 a und b) spaltete die Gattung Valsa auf Grund der Struktur des „Perithecienkerns“ oder „Perithecienucleus“ (heute meist als Perithecienzentrum bezeichnet) endgültig auf. Er betrachtete als typische Vertreter der alten Gattung *Valsa* die Arten der Untergattungen *Euvalsa, Leucostoma* und *Valsella* und stellte diese zu den Diaportheen. Diese Auffassung wurde bis heute im wesentlichen beibehalten. Die heutigen Diaporthales (z. B. Luttrell, 1951; von Arx und Müller, 1954) umfassen Formen, deren Asci am Scheitel durch eine verdickte Wand und durch einen mit Jod nicht färbbaren Apikalring gekennzeichnet sind (Abb. 2). Dieser erscheint im Mikroskop in Form von zwei nebeneinanderliegenden, stark lichtbrechenden Körperchen. Die Asci bleiben bei einigen Gattungen an der ganzen Perithecienwand fest angewachsen und bilden ein deutliches Hymenium (z. B. bei *Phomatospora* Sacc. und *Sydowiella* Petr.); in den typischen Fällen (so bei *Leucostoma* und ihren Verwandten) lösen sie sich aber durch Verschleimen des Stiels bald von der Unterlage ab und erfüllen schließlich den ganzen Hohlraum des Peritheciums. Die Reihe wird vorläufig in die Familien der Valsaceen (mit allantoiden Sporen) und der Diaporthaceen (mit anders geformten Sporen) gegliedert. Die Entwicklungsgeschichte der verschiedenen Typen (vgl. Ruhland, 1900; Petrak, 1923 a; Wehmeyer, 1926; Luttrell, 1951) und die Umgrenzung und Gliederung der Reihe müssen in manchen Punkten noch genauer untersucht werden.



Abb. 2. Asci- und Ascosporen von *Leucostoma Persoonii* (Nit.) v. H. Vergr. 800×



Abb. 3. Fruchtkörper von *Leucostoma Persoonii* (Nit.) v. H. in der Rinde von *Sorbus aucuparia* L. Auf der weißen Mündungsscheibe erkennt man die schwarzen Perithecienmündungen. Vergr. 4 × *(Aufnahme Photographisches Institut ETH)*

Von den übrigen ehemaligen Untergattungen von *Valsa* ist *Endoxyla* Fuck. ebenfalls diaporthal gebaut, hat jedoch ellipsoidische Sporen und gehört deshalb zu den Diaporthaceen (von Arx und Müller, 1954). Die andern Gruppen (*Eutypa, Eutypella* usw.) müssen noch näher untersucht werden; sie sind wohl zum großen Teil bei den Diatrypaceen (Reihe der Sphaeriales) unterzubringen.

Die Gattungen *Valsa* Fr. p. p. sensu v. H. (syn. *Euvalsa* Nit.), *Leucostoma* (Nit.) v. H. und *Valsella* Fuck. lassen sich nach dem folgenden Schlüssel auseinanderhalten:

1. Stroma deutlich entwickelt und von einer schwarzen Basalschicht (dem Konzeptakel) umgeben.
   2. Asci vier- oder achtsporig .... *Lcucostoma*
   2*. Asci vielsporig .... *Valsella*
1*. Stroma wenig entwickelt, ohne schwarze Basalschicht .... *Valsa (Euvalsa)*

Petrak (1923 b, 1940) verneint die Existenzberechtigung der Gattung *Valsella* und betrachtet deren Arten lediglich als vielsporige Formen verschiedener *Leucostoma*-Arten, so *Valsella aucupariae* Kirschst. als „*Valsella*-Form" von *Leucostoma Persoonii.* Diese Auffassung kann zweifellos vertreten werden; ob sie in allen Fällen berechtigt ist, müssen eingehendere Untersuchungen an den *Valsella*-Pilzen lehren. Nach unseren bisherigen Erfahrungen ist die Vielsporigkeit wenigstens für ein und denselben Stamm ein konstantes Merkmal. Auch die Abgrenzung zwischen *Leucostoma* und *Valsa* und die Stellung gewisser Übergangsformen (Petrak, 1921) läßt sich erst auf Grund einer Gesamtbearbeitung aller dieser Pilze entscheiden. Zur Zeit erscheint es zweckmäßig, die drei Gattungen in der genannten Weise auseinanderzuhalten.

2. KAPITEL

Die morphologischen Merkmale der *Leucostoma*-Pilze

Wie in den übrigen Pilzgruppen, so gründet sich auch in der Gattung *Leucostoma* die Artunterscheidung in erster Linie auf die morphologischen Merkmale. Versucht man jedoch, auf Grund von Fruchtkörpern, Asci und Ascosporen *Leucostoma*-Pilze in die herkömmlichen Arten einzuordnen, treten beträchtliche Schwierigkeiten auf. Neben den als typisch zu betrachtenden Exemplaren finden sich immer wieder Übergangsformen, die sich nicht sicher bestimmen lassen. Es ist deshalb notwendig, die morphologischen Grundlagen der Artumgrenzung einer kritischen Prüfung zu unterziehen.

A. Die Merkmale der Fruchtkörper

Die Fruchtkörper der *Leucostoma*-Pilze bestehen aus dem vegetativen Stroma und den darin eingelagerten Perithecien (Abb. 1). Der innere Teil des Stromas (das Entostroma; vgl. Ruhland, 1900) wird aus lockeren Pilzhyphen gebildet, zwischen denen meist auffällige Reste der Wirtsgewebe liegen. Im mehr oder weniger deutlich abgegrenzten äußeren Stromateil (dem Ectostroma) treten die wirtseigenen Elemente zurück oder fehlen ganz, und die Pilzhyphen sind dichter verflochten. Der von außen sichtbare Teil des Fruchtkörpers (die Scheibe) ist häufig (besonders bei jungen Fruchtkörpern) rein weiß und läßt die Mündungen der Perithecien als randständige oder zerstreute, schwarze Punkte erkennen (Abb. 3). Mit dem Alter wird die Scheibe meist dunkler. Die Fruchtkörper der Nebenfruchtform (*Cytospora* Ehrenb.), die Pykniden, sind ähnlich gebaut und enthalten meist nur eine, mehr oder weniger stark gekammerte konidienführende Höhlung, deren Mündung in der Mitte der meist weißen Scheibe als schwarzer Punkt erscheint. Die Konidien treten oft in Form von lebhaft gefärbten

Schnüren aus der Mündung aus. In manchen Stromata ist eine zentrale konidienführende Höhlung von randständigen Perithecien umgeben.

Das Stroma, das ja zwischen seinen Pilzhyphen noch zahlreiche Elemente der Wirtspflanze enthält, ist in Form und Größe sehr veränderlich und von der Struktur der Wirtsgewebe abhängig. So sind die Stromata von *Leucostoma Persoonii* auf Pflaumenbäumen unregelmäßig-eckig, auf Ästen und Zweigen des Kirschbaums dagegen häufig quer zur Astrichtung verlängert; das Periderm der Kirschbaumäste reißt ja leicht in dieser Richtung auf. Das schwarze Konzeptakel von *Leucostoma translucens* scheint durch das dünne Periderm junger Weidenzweige sehr viel stärker durch und gibt dem Fruchtkörper ein ganz anderes Aussehen als auf älteren Zweigen. Das Aussehen der Fruchtkörper darf deshalb nur mit Vorsicht zur Artumgrenzung verwendet werden. Leider ist es bis heute nur in sehr beschränktem Ausmaß möglich gewesen, die verschiedenen Stämme in Reinkultur unter definierten Bedingungen zur Bildung der Hauptfruchtform zu veranlassen (S. 169). Die Fruchtkörper, die von einzelnen Stämmen auf Agarsubstraten usw. gebildet werden, sind (wie auch die Fruchtkörper der Nebenfruchtform) in ihrer Form sehr unbestimmt und von den auf Ästen und Zweigen gebildeten stark verschieden. Auf der anderen Seite ist es immerhin möglich, die Fruchtkörper von *Leucostoma Persoonii* und *Leucostoma Massariana* auf *Sorbus aucuparia* ziemlich gut auseinanderzuhalten, obschon es auch hier Stämme gibt, welche die Grenzen verwischen (vgl. S. 172).

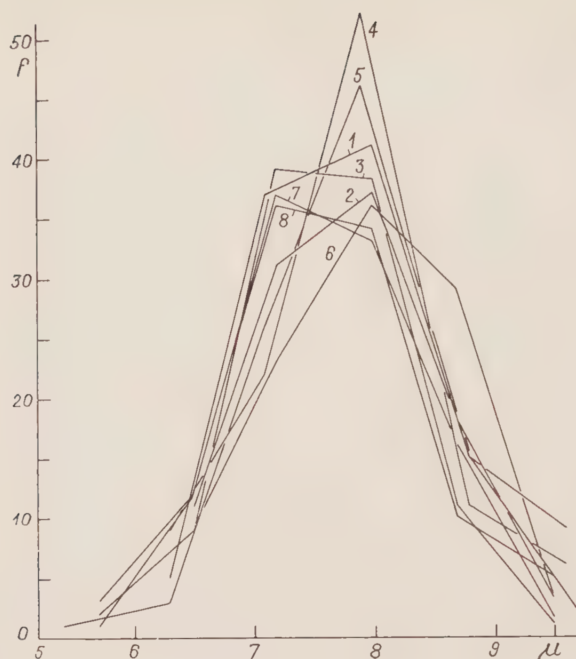
B. Die Merkmale der Asci und Ascosporen

Die Form der Asci und Ascosporen ist innerhalb der Gattung *Leucostoma* ziemlich einheitlich (Abb. 2); dagegen variiert ihre Größe von Stamm zu Stamm sehr stark. Es sei dies im folgenden am Beispiel der Länge der Ascosporen dargelegt.

1. Methodik der Messungen

Die Messung der Ascosporen (und auch der Konidien) wird durch die geringe Größe etwas erschwert. Die besten Ergebnisse wurden mit den schon von Défago (1935) verwendeten Tuscheausstrichen erhalten. Die in möglichst dichter Suspension auf Objektträger ausgestrichenen Sporen lassen sich nach dem Eintrocknen gut messen. Die Sporen können mit dem Messokular direkt gemessen oder zuerst mit einem Abbé'schen Zeichenapparat gezeichnet werden. Beide Methoden ergeben übereinstimmende Resultate; für unsere Serienmessungen erwies sich die zweite Methode als günstiger. Eine Messung umfaßte meist 100 Sporen; die Größenklassen wurden einheitlich auf rund $^{1}/_{10}$ der mittleren Länge der zu messenden Strecke festgelegt. Soweit eine statistische Auswertung der Messungen wünschenswert erschien, erfolgte sie nach den Formeln von Linder (1951).

In Abbildung 4 und Tabelle 1 sind die Ergebnisse wiederholter Messungen der Ascosporen des gleichen Pilzes (aus verschiedenen Präparaten, mit verschiedenen Methoden und mit verschiedenen Mikroskopen) zusammenge-



stellt. Die Mittelwerte aus je 100 Sporen liegen zwischen 7,6 und 7,9 μ, also in einem Bereich von etwa 5 % der Länge. Die Streuung der einzelnen Messungen beträgt rund 10 % des Mittelwertes der Länge. Die Verteilungskurven zeigen ein einheitliches Bild, und die Ergebnisse sind auch statistisch befriedigend. Die Methode ist also für unsere Zwecke brauchbar.

Abb. 4. Länge der Ascosporen von *Leucostoma nivea* Stamm 663; wiederholte Messungen von je 100 Ascosporen. Abszisse: Länge in μ. Ordinate: Häufigkeit f der einzelnen Größenklassen (vgl. Tabelle 1)

Tabelle 1

Länge der Ascosporen von *Leucostoma nivea* Stamm 663
wiederholte Messungen von je 100 Ascosporen

Präparat	Messung	Methode	Sporenlänge in μ (Mittelwert $\bar{x}$ und Streuung s)
I	1	nach Zeichnung gemessen	7,7 ± 0,7
	2	nach Zeichnung gemessen	7,8 ± 0,8
	3	nach Zeichnung gemessen	7,6 ± 0,7
	4	direkt gemessen	7,8 ± 0,6
II	5	direkt gemessen	7,9 ± 0,7
	6	nach Zeichnung gemessen	7,9 ± 0,8
	7	nach Zeichnung gemessen	7,6 ± 0,7
III	8	nach Zeichnung gemessen	7,6 ± 0,8

2. Sporenmessungen an verschiedenen Stämmen

Die großen Unterschiede in den Sporenmaßen nahe verwandter *Leucostoma*-Stämme wurden bereits in früheren Arbeiten beschrieben (DÉFAGO, 1935; KERN, 1955 a); sie sollen hier lediglich an einem Beispiel veranschaulicht werden. Wir wählten dafür einige Stämme, die auf *Populus*-Arten in verschie-

denen Gegenden gesammelt wurden; sie sind auf Grund ihres Fruchtkörperbaus nicht zu unterscheiden und gehören nach heutiger Auffassung alle der Art *Leucostoma nivea* an.

Tabelle 2 und Abbildung 5 zeigen den beträchtlichen Streuungsbereich der Ascosporenlänge dieser Stämme. Die bisher gemessenen Werte liegen zwischen 5 und 17 μ, und es ist durchaus möglich, daß noch kleinere und noch größere Sporen gefunden werden. Scharf abgegrenzte Gruppen lassen sich innerhalb dieses Bereichs nicht erkennen. Man könnte sich allenfalls fragen, ob sich die kleinsporigen und die großsporigen Formen unter sich zusammenfassen lassen, doch bestehen auch hier Übergänge. An den Zahlen der Tabelle 2 fällt auch auf (und weitere Messungen bestätigten dies), daß die Formen mit großen Sporen vor allem in Europa, diejenigen mit kleinen Sporen vor allem in Nordamerika verbreitet sind. Es gibt allerdings Ausnahmen (z. B. Kurve 9); auch WEHMEYER (1942) beschreibt aus Kanada groß- und kleinsporige Formen. Ob hier Gesetzmäßigkeiten bestehen, wird im Zusammenhang mit Fragen der Entstehung neuer Stämme zur Zeit noch untersucht.

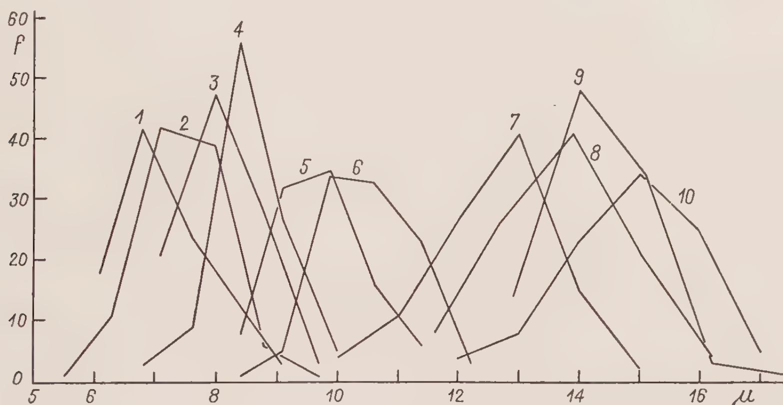


Abb. 5. Länge der Ascosporen verschiedener Stämme von *Leucostoma nivea*. Abszisse: Länge in μ. Ordinate: Häufigkeit f der einzelnen Größenklassen. Von jedem Stamm wurden 100 Sporen gemessen; Erklärung der Stammnummern in Tabelle 2. Alle Sporen stammen aus achtsporigen Asci

Auf diese Weise umfaßt jedenfalls der gesamte Längenbereich der Ascosporen sowohl die großsporigen Formen der europäischen Florenwerke als auch die kleinsporigen Formen, die zuerst von ELLIS und EVERHART (1892) aus Nordamerika beschrieben worden sind. Der Bereich der „Art" muß damit sehr weit gefaßt werden; innerhalb dieses Bereichs sind die einzelnen Stämme — unter anderem — durch die Sporenmaße bis zu einem gewissen Grade charakterisiert.

Ähnliche Verhältnisse bestehen auch bei andern *Leucostoma*-Arten und verursachen vor allem dort Schwierigkeiten, wo auf derselben Wirtspflanze

auf Grund der Sporenmaße verschiedene Arten unterschieden worden sind; wir werden an einer späteren Stelle dieser Arbeit darauf zurückkommen müssen.

Tabelle 2

Länge der Ascosporen verschiedener Stämme von *Leucostoma nivea* (vgl. Abb. 5)

Nr. in Abb. 5	Herkunft	gesammelt auf *Populus*	Nummer des Stammes	Mittelwert der Ascosporenlänge
1	Douglas Lake, Mich., USA	*tremuloides* Michx.	686	7,2
2	Ann Arbor, Mich., USA	*alba* L.	620	7,5
3	Mackinaw City, Mich., USA	*tremuloides* Michx.	53/113	8,1
4	St. Véran, Hautes-Alpes, Frankreich	*tremula* L.	701	8,5
5	Herblingen, Schaffhausen, Schweiz	*tremula* L.	642	9,8
6	Cugnasco, Tessin, Schweiz	*alba* L.	751	10,5
7	Spino, Bergell, Schweiz	*tremula* L.	55/23	12,6
8	Ekebo, Schweden	*tremula* × *tremuloides*	757	13,7
9	Isle Royale, Mich., USA	*tremuloides* Michx.	*L. E. Wehmeyer* 361	14,3
10	La Drossa, Graubünden, Schweiz	*tremula* L.	712	14,8

3. KAPITEL

Die Beziehungen der *Leucostoma*-Pilze zu ihren Wirtspflanzen

Neben den morphologischen Merkmalen wird die systematische Stellung der Wirtspflanzen als zweites wesentliches Kriterium für die Umgrenzung der *Leucostoma*-Arten verwendet. Der Wirtskreis der einzelnen Arten ist (immer nach der in der Literatur und in den Sammlungen gebräuchlichen Auffassung) bald eng (nur eine Gattung oder nur eine Art), bald weiter (Gattungen aus verschiedenen Familien und Reihen). So wird *Leucostoma Massariana* im wesentlichen für *Sorbus aucuparia* und *Leucostoma aquifolii* für *Ilex aquifolium* angegeben, während als Wirtspflanze für *Leucostoma Auerswaldii* unter anderem *Rhamnus Frangula*, *Rhamnus cathartica*, *Fagus*, *Betula*, *Salix*, *Pirus Malus*, *Prunus Padus*, *Corylus avellana* und *Sarothamnus scoparius* erwähnt werden.

Die Berechtigung dieser Artgrenzen wurde bereits von Défago (1935) zur Diskussion gestellt. Auf Grund von Infektionsversuchen bezweifelte er zum Beispiel die Abgrenzung von *Leucostoma nivea (Populus)* gegenüber *Leucostoma Persoonii* (*Prunus* und andere Rosaceen).

Bei der experimentellen Behandlung dieser Probleme stellen sich verschiedene Fragen, die sich zum Teil überschneiden.

1. Wie weit sind die verschiedenen *Leucostoma*-Stämme überhaupt Parasiten und wie weit besiedeln sie nur als Saprophyten tote Zweige?

2. Wie weit können die einzelnen Stämme in spezifischer Weise nur bestimmte Wirtspflanzen befallen?

3. Unter welchen Bedingungen im Innern des Baumes und in der Umwelt ist eine Infektion und Erkrankung des lebenden Baumes möglich?

4. Welche Bedingungen sind zur Fruchtkörperbildung notwendig?

Da unsere Pilze — soweit bekannt — eher schwache Parasiten (die vor allem geschädigte Wirte befallen) oder toxinbildende Saprophyten sind, die im Laboratorium auf den verschiedensten Substraten, auch auf totem Holz der verschiedensten Wirtspflanzen ohne weiteres wachsen, ist eine scharfe Spezialisierung eigentlich nicht zu erwarten. Défago (1935) konnte jedenfalls zeigen, daß die von ihm untersuchten Stämme von *Leucostoma Persoonii* und *L. cincta* innerhalb der Gattung *Prunus* die verschiedensten Arten befallen. Anderseits finden sich *Leucostoma*-Pilze in der Natur auf bestimmten Baumarten (z. B. auf *Populus tremula*) fast regelmäßig, auf anderen dagegen nur selten; es muß also doch eine gewisse Spezialisierung (die sich zum Beispiel in der Neigung zur Fruchtkörperbildung ausdrücken mag) vorhanden sein. Auch in den eben genannten Versuchen von Défago waren die quantitativen Unterschiede im Infektionserfolg der einzelnen Wirt-Parasit-Kombinationen sehr groß.

Daß eine solche Spezialisierung tatsächlich besteht, möge der folgende Versuch zeigen. Abgeschnittene Zweigstücke verschiedener Holzarten wurden in Wasser gestellt und durch oberflächliches Anbrennen und Auflegen eines Myzelstücks mit *Leucostoma*-Stämmen verschiedener Herkunft infiziert. Nach einem Monat hatte der von *Sorbus aucuparia* isolierte Stamm 739 lediglich auf den Zweigstücken dieser Wirtspflanze, der von *Populus tremuloides* isolierte Stamm 663 lediglich auf den Zweigstücken von *Populus alba* und *P. tremula* Pyknidien gebildet. Auf Zweigstücken von *Sorbus aucuparia* legte der Stamm 663 erst zwei Wochen später vereinzelte Pyknidien an, und bei den übrigen Kombinationen kam die Infektion wohl zum Haften, doch verlief die Krankheit noch langsamer.

Zu ähnlichen Überlegungen gelangte Christensen (1940) in seinen vergleichenden Untersuchungen über *Valsa sordida* auf *Populus tremuloides* und über die durchwegs allein auftretenden Nebenfruchtformen auf anderen *Populus*-Arten. Er konnte zahlreiche unterscheidbare Stämme isolieren, erhielt aber von *Populus tremuloides* (*Valsa sordida*, Haupt- und Nebenfruchtform) Stämme, die sich von solchen auf anderen Pappeln (nur Nebenfruchtformen, meist als *Cytospora chrysosperma* bezeichnet) praktisch nicht unterschieden. Zur Erklärung dieses Sachverhaltes stellt er unter anderem die Möglichkeit zur Diskussion, daß manche der von verschiedenen Wirtspflanzen isolierten Stämme identisch sind, daß aber die Voraussetzungen zur Perithecienbildung in den Zweigen von *Populus tremuloides* relativ häufig, in denen anderer Pappeln dagegen nicht oder nur selten verwirklicht sind.

Unsere Versuche mußten zunächst klären, wie weit die verschiedenen *Leucostoma*-Stämme imstande sind, lebende Wirtspflanzen verschiedener systematischer Stellung von Wunden aus zu befallen und abzutöten.

A. Methodik

Die Infektionsversuche wurden an jungen, aus Stecklingen oder Samen gezogenen Bäumen im Gewächshaus oder im Freiland vorgenommen. Es handelte sich darum, den Parasiten möglichst günstige Infektionsbedingungen zu schaffen; wir verwendeten deshalb vorwiegend Schnittwunden, die leicht angebrannt wurden und die nach den Erfahrungen von Défago (1935) die besten Infektionserfolge gewährleisten. Wir stellten also dem in die Wunde eingebrachten Pilz einen kleinen Bereich toten Gewebes zum Start zur Verfügung. Vergleichsversuche mit Wunden ohne Anbrennen ergaben nur sehr vereinzelte positive Infektionen. Das in die Wunde eingebrachte Impfstück (aus einer Reinkultur auf Malzagar) wurde mit Klebeband fixiert und mit feuchter Watte vor dem Austrocknen geschützt.

B. Die Disposition des Wirtes

Die Disposition des Wirtes, d. h. der in einem bestimmten Zeitpunkt bestehende Anfälligkeitszustand gegenüber einem Parasiten (Gäumann, 1951, S. 469 ff.) kann den Verlauf von Infektion und Erkrankung in hohem Maße beeinflussen. Leonian (1921) erhielt mit *Leucostoma Persoonii* an gesunden Apfelbäumen keine positiven Wundinfektionen, dagegen ohne weiteres an Bäumen, die zum Beispiel durch eine Vorerkrankung geschwächt waren. Waterman (1955) infizierte verschiedene Stämme von *Leucostoma Kunzei* auf junge, kräftige Koniferen, brachte aber nur wenige Wirtspflanzen zum Erkranken; da viele der im Freiland von diesen Pilzen befallenen Bäume deutlich geschädigt und geschwächt waren, schreibt die Autorin einen Teil der negativen Ergebnisse dem zu guten Gesundheitszustand der Versuchspflanzen zu.

Die Krankheitsbereitschaft verändert sich in hohem Maße mit der Jahreszeit. Défago (1935) erhielt im Frühling und Herbst viele, im Sommer dagegen nur wenige positive Infektionen. In unsern Versuchen war der Infektionserfolg bei den einen Wirtspflanzen im Herbst, bei anderen jedoch im Frühling besser. Welche Faktoren in der Umwelt und im Innern des Wirtes (Wassergehalt der Zweige, fördernde oder hemmende Stoffe usw.; Münch, 1909; Butin, 1955; Persson, 1955) die Disposition beeinflussen, soll in späteren Versuchen näher geklärt werden.

C. Der Krankheitsverlauf

Wenn sich der Parasit in der Wirtspflanze festsetzen und ausbreiten kann, verursacht er in der Regel ein auffallendes Welken der oberhalb, später auch der unterhalb der Infektionsstelle gelegenen Wirtsteile; die Blätter werden braun und steif und fallen ab, und Zweige und Äste gehen zugrunde.



Abb. 6 (links). Welke der Blätter (Bräunung, Einrollen, Versteifung) einer jungen Pflanze von *Prunus laurocerasus*, verursacht durch *Leucostoma nivea* Stamm 620, zwei Wochen nach Infektion. Die unterhalb der Infektionsstelle gelegenen Blätter zeigen noch keine Symptome. ½ nat. Größe. *(Aufnahme Photographisches Institut ETH)*

Abb. 7 (rechts). Fortgeschrittenes Welkestadium einer jungen Pflanze von *Prunus laurocerasus*, zwei Monate nach Infektion mit *Leucostoma Persoonii* Stamm 619. Die Blätter oberhalb der Infektionsstelle sind braun und steif geworden und zum großen Teil abgefallen, und in der Umgebung der Infektionsstelle finden sich Pyknidien. Die Blätter unterhalb der Infektionsstelle zeigen erst leichte Welkesymptome. ½ nat. Größe. *(Aufnahme Photographisches Institut ETH)*

Abb. 8 (unten). Reaktionszone am Ast einer Silberpappel (*Populus alba*), zwei Monate nach Infektion mit *Leucostoma nivea* Stamm 663. Die Infektionsstelle ist abgestorben, eingesunken und von einer Überwallungszone umgeben. Das Pilzmyzel hat sich jedoch über diese Zone hinaus ausgebreitet, und die oberhalb der Infektionsstelle gelegenen Blätter welkten bereits zwei Wochen nach Infektion. Die abgestorbenen Wirtsgewebe tragen Pyknidien. Etwas vergrößert

(Aufnahme Photographisches Institut ETH)



Manche Pflanzen (z. B. von *Populus alba*) welkten bereits nach einer Woche und waren plötzlich sehr stark geschädigt; dieser rasche Krankheitsverlauf ist von den Aprikosenbäumen des Wallis als Apoplexie bekannt. In anderen Versuchen traten die ersten Welkeerscheinungen erst nach mehreren Wochen auf und nahmen in der Folge langsam an Intensität zu. Aus den befallenen Zweigen läßt sich der Krankheitserreger rückisolieren. Pyknidien werden auf den abgetöteten Zweigen und Ästen häufig, die Hauptfruchtform dagegen nur in besonderen Fällen gebildet.

Über die stofflichen Grundlagen von Resistenz und Anfälligkeit und über die Mechanismen der parasitischen Wirkung ist noch wenig bekannt. Ein Teil der Schädigungen dürfte durch toxische Stoffwechselprodukte der Parasiten verursacht werden, doch konnten diese noch nicht rein dargestellt werden.

D. Das Wirtsspektrum einzelner *Leucostoma*-Stämme

Versuchsfrage: Welche Wirtsarten vermag ein *Leucostoma*-Stamm von Brandwunden aus zu befallen?

Wir impften einzelne *Leucostoma*-Stämme, die von verschiedenen Wirten isoliert worden waren, auf gesunde Pflanzen aus verschiedenen Familien. Die Versuche mußten sich aus technischen Gründen auf eine relativ kleine Auswahl von Kombinationen beschränken; wir prüften in erster Linie die Beziehungen zwischen Stämmen, die von Pappeln stammten (*Leucostoma nivea*) und solchen von Rosaceen (*Leucostoma Persoonii, cincta* und *Massariana*). Die Versuche wurden durch die großen Anfälligkeitsunterschiede von Pflanze zu Pflanze wesentlich erschwert. Es zeigte sich immer wieder, daß die Infektion in einer bestimmten Parasit-Wirt-Kombination je nach dem Entwicklungsstadium der Pflanze, der Dicke der Zweige usw. sehr unterschiedlich verlaufen kann. Viele der infizierten Wirtspflanzen (z. B. *Prunus cerasus, Prunus avium, Sorbus aucuparia, Prunus domestica* und *Pirus communis*) wurden in den Versuchen der letzten Jahre nur ganz vereinzelt und unregelmäßig befallen und lieferten unsichere Ergebnisse. Tabelle 3 führt nur diejenigen Wirtspflanzen auf, an denen einzelne Stämme regelmäßig positive Infektionen verursachten und die deshalb als Differentialwirte geeignet erschienen. Wachstum und Identität der Pilze konnten durch den mikroskopischen Nachweis des Myzels im Wirtsgewebe und durch Rückisolierung aus Myzel und Pyknidien sichergestellt werden.

Wir können der Tabelle 3 folgendes entnehmen:

1. Die Unterschiede in der Pathogenität der einzelnen Stämme sind beträchtlich. Stamm 663 bringt die verschiedensten Wirtspflanzen regelmäßig zum Erkranken; die Stämme 652 und 701 dagegen können auf Grund dieser Versuche nicht als pathogen bezeichnet werden.

2. Das Wirtsspektrum mancher Stämme ist weit und geht über die zur Artumschreibung stillschweigend angenommenen Grenzen hinaus. Die Wirtsspektren könnten zweifellos noch wesentlich erweitert werden, doch lie-

Tabelle 3

Infektionsversuche mit *Leucostoma*-Stämmen

0 Infektionen durchwegs negativ
+ vereinzelte positive Infektionen, fast immer ohne Pyknidien
++ regelmäßig positive Infektionen, stets mit Pyknidien

Populus „Androscoggin“ = *P. maximowiczii* × *P. trichocarpa* 10.4 (Eidg. Forstl. Versuchsanstalt, Zürich)

Stamm Nr.	isoliert von	infizierte Pflanzen: *Populus alba* 08,18	*Populus tremula*	*Populus Androscoggin*	*Prunus laurocerasus*	*Prunus lusitanica*	*Fraxinus excelsior*
620	*Populus alba* Ann Arbor, Mich., USA	+	—	+	+	—	—
623	*Pop. tremuloides* Rib Mt., Wis., USA	++	—	—	+	—	—
643	*Pop. tremula* Thalwil, Zürich	—	+	—	+	—	—
652	*Populus alba* Amarillo, Tex., USA	—	—	—	—	—	—
663	*Pop. tremuloides* Wilderness Pk., Mich., USA	++	++	++	++	++	++
690	*Populus alba* Kaiserstuhl, Deutschland	++	—	++	++	++	++
701	*Pop. tremula;* St. Véran, Hautes-Alpes, Frankreich	—	—	—	—	—	—
79	*Prunus armeniaca* Charrat, Wallis	++	—	+	++	++	—
619	*Prunus avium* Wausau, Wis., USA	++	—	++	++	++	—
641	*Sorbus aucuparia* Bergün, Graubünden	+	—	—	++	?	—
708	*Sorbus aucuparia* Zernez, Graubünden	—	—	++	++	++	—
640	*Salix nigricans* Il Fuorn, Graubünden	++	—	—	—	+	++

gen darüber erst wenige sichere Versuche vor. So befiel der Stamm 690 neben den genannten Wirten auch *Prunus cerasus, Pirus communis* und die Hybridaspe *Populus tremula* × *P. tremuloides;* Stamm 619 befiel diese drei Wirte nicht, dafür aber *Prunus domestica.* Keiner der Stämme, die überhaupt pathogen waren, zeigte eine Spezialisierung auf diejenige Wirtspflanze, von der er ursprünglich isoliert worden war. Die untersuchten Stämme verhalten sich gegenüber den Wirtspflanzen der Tabelle 3 qualitativ und quantitativ sehr unterschiedlich; die parasitologischen Merkmale ergeben damit ein ähnliches Bild wie die morphologischen Merkmale im vorhergehenden und die physiologischen im nächsten Kapitel.

Nun sind aber diese Ergebnisse für die Fragen der Artumgrenzung und der Verbreitung der *Leucostoma*-Pilze in der Natur nicht allein ausschlaggebend. In allen unseren Versuchen, die zum Teil über mehrere Jahre hin verfolgt wurden, bildeten die Pilze auf den befallenen Zweigen wohl ihre Pyknidien, aber nur ganz ausnahmsweise die Hauptfruchtform. Dasselbe gilt für die Versuche von Défago (1935). Die untersuchten Stämme sind auf Grund von Versuchen in Reinkultur wenigstens zum Teil sicher imstande, für sich allein die Hauptfruchtform zu bilden; die genetischen Voraussetzungen sind daher gegeben, die physiologischen dagegen nur in sehr geringem Maße. Wir stehen somit vor der weiteren Frage nach den Bedingungen für die Ausbildung der Hauptfruchtform. Diese Frage bekommt noch mehr Gewicht, wenn wir alle die Fälle in Betracht ziehen, wo *Leucostoma*-Pilze saprophytisch tote Zweige und Äste besiedeln. Die Bearbeitung dieser Zusammenhänge steht noch im Anfang; auf Grund der bisherigen Erfahrungen (vgl. auch S. 157) darf vermutet werden, daß die Wirtspflanzen der Tabelle 3 in manchen Kombinationen nur Nebenwirte darstellen, auf denen der Erreger (aus noch unbekannten Gründen) die Hauptfruchtform nicht bilden kann. Ähnliche Verhältnisse bestehen auch bei anderen Pilzen. So bildet der Eichenmehltau (*Microsphaera alphitoides* Griff. et Maubl.) auf der Buche und der Edelkastanie als Nebenwirten nur Konidien, auf verschiedenen Eichenarten als Hauptwirten dagegen auch Perithecien (Gäumann, 1951, S. 264).

4. KAPITEL

Das Verhalten der *Leucostoma*-Stämme in Reinkultur

Die beiden vorhergehenden Kapitel haben gezeigt, daß die Gattung *Leucostoma* sehr heterogen ist und aus einer großen Zahl von Stämmen besteht, die morphologisch und parasitologisch wesentlich voneinander abweichen können und die sich schwer in klare Gruppen zusammenfassen lassen. Wir versuchten deshalb, die Stämme auch auf Grund einiger physiologischer Merkmale zu charakterisieren. Wir prüften Einsporkulturen (wenn immer möglich aus Ascosporen isoliert) von Stämmen verschiedenster Herkunft. Von jeder gesammelten Probe wurden im allgemeinen mehrere Isolierungen untersucht; diese verhielten sich meist ziemlich gleich, in Einzelfällen jedoch sehr unterschiedlich.

Die mit diesen Stämmen angestellten Versuche hatten zunächst die Art und Weise des Wachstums und der Fruchtkörperbildung, ferner die Ernährungsansprüche und schließlich die Stoffwechselprodukte zum Gegenstand. Auch in diesem Kapitel sollen nur einige Beispiele ausführlich geschildert werden; die zahlreichen weiteren Stämme, die in die Versuche einbezogen wurden, verhielten sich grundsätzlich gleich.

A. Das Aussehen der Kulturen

Das Aussehen der Kulturen auf festen Nährböden (Wachstumsweise, Luftmyzelbildung, Farbe, Geschwindigkeit der Farbstoff-

Tabelle 4

Farbe der Kulturen verschiedener Stämme von *Leucostoma nivea.* Erklärung im Text

Stamm	Wirtspflanze *Populus*	Herkunft	Farbe der Kulturen
642/3	*tremula*	Herblingen, Schaffhausen	dunkelbraun-schwarz
751	*alba*	Cugnasco, Tessin	dunkelbraun-schwarz
712	*tremula*	La Drossa, Ofenpaß, Graubünden	braun-oliv
724	*nigra*	Châteauneuf, Wallis	blaß-rötlichbraun-oliv
643	*tremula*	Thalwil, Zürich	blaß-hellbraun, weißes Luftmyzel
701	*tremula*	St. Véran, Hautes-Alpes, Frankreich	olivgrün-schwarz
737	*tremula*	Tende, Alpes-Maritimes, Frankreich	graubraun-schwarz
742	*nigra*	Tende, Alpes-Maritimes, Frankreich	rötlich-dunkelbraun
690	*alba*	Kaiserstuhl, Deutschland	olivgrün-schwarz
757	*tremula* × *tremuloides*	Ekebo, Schweden leg. A. Persson	dunkelbraun-oliv-schwarz
652	*alba*	Amarillo, Tex., USA	schwarz
686	*tremuloides*	Cheboygan, Mich., USA	schwarz
620/1	*alba*	Ann Arbor, Mich., USA	olivbraun-schwarz, hellgraues Luftmyzel
663	*tremuloides*	Wilderness Pk, Mich., USA	weiß-blaß-hellbraun
623	*tremuloides*	Rib Mt., Wis., USA	weiß-blaß-hellbraun

bildung usw.) variiert von Stamm zu Stamm in weiten Grenzen; unter konstanten Bedingungen ist es jedoch bei ein und demselben Stamm durchaus gleichmäßig und läßt sich deshalb als Stammesmerkmal verwenden.

In den Tabellen 4 und 5 ist für zwei Gruppen von Stämmen die Farbe der Kulturen angegeben. Sie wurde auf Grund mehrerer Versuche in Petrischalen und Reagenzgläsern auf KHG-Agar (S. 164) ermittelt; die Kontrolle erfolgte jeweils nach einer Wachstumsdauer von 14 Tagen bei 24 ^{0} C. Bei dem oft sehr reichhaltigen Farbenspiel der Kulturen ist die Charakterisierung der einzelnen Stämme notgedrungen etwas summarisch.

Beide Tabellen zeigen praktisch dasselbe Bild. In beiden Gruppen von Stämmen finden sich neben zahlreichen oliv-braun-schwarzen Stämmen einige hell gefärbte, weiß-blaß-bräunliche Stämme und schließlich solche mit lebhaften, rötlich-grünen Farben. Charakteristische Unterschiede zwischen den Stämmen beider Arten, zwischen mitteleuropäischen und nordamerikanischen Stämmen oder zwischen den Stämmen von verschiedenen Wirtspflanzen lassen sich nicht feststellen.

Kultiviert man diese Pilze auf flüssigen Nährmedien, zeigen sich ähnliche Unterschiede in der Farbe von Myzelien und Kulturfiltraten. Untersuchungen über die chemische Natur der Farbstoffe sind im Gange.

Tabelle 5

Farbe der Kulturen verschiedener Stämme von *Leucostoma Persoonii*. Erklärung im Text

Stamm	Wirtspflanze	Herkunft	Farbe der Kulturen
704	*Prunus spinosa*	Savièse, Wallis	oliv-dunkelbraun-schwarz
705	*Sorbus aucuparia*	Müstair, Graubünden	graugrün-dunkelbraun-schwarz
739	*Sorbus aucuparia*	Nante, Tessin	dunkel graubraun-schwarz
731	*Prunus laurocerasus*	Zollikon, Zürich leg. E. Müller	weiß-blaß-hellbraun
706	*Sorbus aucuparia*	Molines-en-Queyras, H.-A., Frankreich	weiß-blaß
734	*Sorbus Aria*	Tende, Alpes-Maritimes, Frankreich	hellbraun-dunkelgrau
735	*Prunus persica*	Tende, A.-M., Frankreich	rötlich-graubraun-schwarz
744	*Prunus spinosa*	Tende, A.-M., Frankreich	honiggelb-olivgrün-braun
607	*Prunus insititia*	Ann Arbor, Mich., USA	olivbraun-schwarz
684	*Prunus serotina*	Pellston, Mich., USA	dunkel graubraun-schwarz
619	*Prunus avium*	Wausau, Wis., USA	hellbraun-rötlich-graugrün
603	*Prunus avium*	Ann Arbor, Mich., USA	weiß-blaß-hellbraun

B. Die Wachstumsgeschwindigkeit

Versuchsfrage: Unterscheiden sich die verschiedenen *Leucostoma*-Stämme in der Geschwindigkeit ihres Myzelwachstums?

Die Stämme wurden auf KHG-Lösung in 500 cc-Erlenmeyerkolben mit je 100 cc Nährlösung bei 26—27 ° C kultiviert. Die KHG-Lösung enthält im Liter 1 g Calciumnitrat, 0,25 g Magnesiumsulfat, 0,25 g Monokaliumphosphat, 0,25 g Kaliumchlorid, 0,01 g Ferrichlorid, 5 g Hefenextrakt (Difco) und 20 g Glukose.

Für die Myzelgewichtsbestimmungen wurden je 4 Kolben geerntet und das Myzel nach den üblichen Methoden (z. B. Stoll, 1954) filtriert, getrocknet und gewogen. Die Unterschiede zwischen den Parallelkolben waren durchwegs sehr gering.

Abbildung 9 zeigt die Ergebnisse eines Wachstumsversuchs mit einigen Stämmen von *Leucostoma nivea*. Die Unterschiede sind beträchtlich. Manche Stämme wachsen langsam bis mittelstark und während 4—5 Wochen ziemlich stetig; andere Stämme wachsen in den ersten 2—3 Wochen sehr intensiv und können später wieder deutlich an Myzelgewicht verlieren. Es fällt auf, daß die auf Grund der Infektionsversuche (Tabelle 3) stark pathogenen Stämme 663 und 690 zur zweiten Gruppe gehören; die Zusammenhänge zwischen dem Verhalten in vivo und den während des intensiven anfänglichen Wachstums ausgeschiedenen Enzymen, Toxinen usw. bleiben noch zu klären. Bei dem ebenfalls sehr rasch wachsenden, aber etwas weniger pathogenen Stamm 620 konnte gezeigt werden, daß er sehr giftige Stoffwechselprodukte in die Kulturflüssigkeit ausscheidet. Reichliche Toxinbildung während der Periode des

intensiven Myzelwachstums wurde auch bei Pilzen aus anderen Gruppen beobachtet (z. B. *Fusarium lycopersici*; KERN, 1952). Anderseits zeigt auch der Stamm 652 ein sehr starkes (wenn auch etwas verzögertes) Wachstum, obschon er nach Tabelle 3 nicht pathogen ist; die Vorgänge sind offensichtlich von Stamm zu Stamm sehr verschieden.

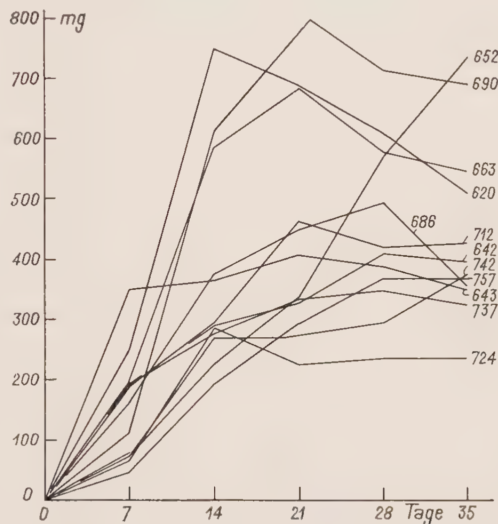


Abb. 9. Wachstumsgeschwindigkeit verschiedener Stämme von *Leucostoma nivea*. Abszisse: Wachstumszeit. Ordinate: Myzelgewicht je Kolben. Für die Herkunft der Stämme vgl. Tabelle 4

Diese Versuche erfassen nur das Wachstum unter ganz bestimmten Bedingungen und vor allem bei der konstanten Temperatur von 26—27 ⁰ C. Verfolgt man das Wachstum bei verschiedenen Temperaturen, zeigen sich in bezug auf Kurvenverlauf und Wachstumsoptimum ähnliche Stammesunterschiede wie in Abteilung 9. Die optimale Temperatur, die das stärkste Wachstum ermöglicht, liegt bei den jetzt geprüften Stämmen (die nur eine kleine Auswahl darstellen) zwischen 21 und 33 ⁰ C. Auch beim Vergleich des Wachstums verschiedener Stämme bei der jeweiligen Optimaltemperatur erhält man ähnlich große Unterschiede wie in Abb. 9.

Zahlreiche weitere *Leucostoma*-Stämme, welche in diese Versuche einbezogen wurden, bestätigen dieses Bild. Scheinbar nahe verwandte Stämme können sehr unterschiedlich wachsen, und umgekehrt können sich Stämme der verschiedensten Arten und von den verschiedensten Wirtspflanzen sehr ähnlich verhalten. Eine Korrelation der Wachstumseigenschaften mit anderen Stammesmerkmalen konnte nicht gefunden werden.

C. Die Verwertung verschiedener Nährstoffe

Die unterschiedliche Verwertung verschiedener Kohlenstoffquellen wird bei Bakterien, Actinomyceten (z. B. ZÄHNER und ETTLINGER, 1957) und Hefen (z. B. LODDER und KREGER- VAN RIJ, 1952) zur Differenzierung der Arten herangezogen. Auch in der Gattung *Taphrina* unterscheiden sich die Arten in der Verwertung zahlreicher Kohlenstoff- und Stickstoffquellen (MIX, 1953, 1954). Jede Art zeigt ihr charakteristisches Mosaik; nur vereinzelte Arten besitzen ähnliche Eigenschaften. Innerhalb einer Art stimmen die einzelnen Stämme (d. h. die von verschiedenen Wirtspflanzen stammenden Isolierungen) in ihren Fähigkeiten zum Teil überein; zum Teil weichen sie mehr oder weniger stark voneinander ab.

Tabelle 6

Das Wachstum einiger Stämme von *Leucostoma nivea* mit und ohne Hefenextrakt

Kontrolle des Wachstums nach 14 Tagen entsprechend folgendem Schema:
— kein Wachstum oder Spuren ++ mittelstarkes Wachstum
+ schwaches Wachstum +++ sehr starkes Wachstum

Nähere Angaben über die einzelnen Stämme in Tabelle 4.

Stamm	Wachstum ohne Hefenextrakt	Wachstum mit Hefenextrakt
642/3	—	++ dunkelbraun-schwarz
751	—	++ dunkelbraun-schwarz
712	—	+++ braun-oliv
724	—	++ blaß-rötlichbraun-oliv
643	+ farblos-blaß	++ blaß, weißes Luftmyzel
701	—	+++ olivgrün-schwarz
737	+ grau	+++ graubraun-schwarz
742	+ farblos	++ rötlich-dunkelbraun
690	—	+++ olivgrün-schwarz
757	+ graugrün	++ dunkelbraun-oliv-schwarz
652	—	++ schwarz
686	+ farblos	+++ schwarz
620/1	++ graugrün-olivbraun	+++ olivbraun-schwarz, hellgraues Luftmyzel
620/2	—	+++ dunkel olivbraun
620/3	—	+++ dunkel olivbraun
663	+ farblos-blaß	+++ weiß-blaß-hellbraun
623	—	++ blaß-hellbraun

Ähnlich, nur weniger übersichtlich liegen die Verhältnisse in der Gattung *Leucostoma*. Wir prüften hier lediglich eine Anzahl von Stämmen gegenüber verschiedenen Kohlenstoffquellen. Einzelne Zucker (z. B. Glukose oder D-Fruktose) werden von allen Stämmen ziemlich gleichmäßig verwertet; bei anderen Verbindungen (z. B. D-Sorbit, Glycerin oder Natriumcitrat) treten Unterschiede auf, so daß sich die Stämme bis zu einem gewissen Grade charakterisieren lassen. Gesetzmäßigkeiten in bezug auf die Eigenschaften der Stämme derselben „Art" oder von der gleichen Wirtspflanze und Korrelationen mit anderen Merkmalen konnten nicht gefunden werden.

D. Der Bedarf an zusätzlichen Wachstumsfaktoren

Manche *Leucostoma*-Stämme benötigen zum Wachstum über die üblichen anorganischen Salze und eine geeignete Kohlenstoffquelle hinaus noch zusätzliche Wirkstoffe, die zum Beispiel im Hefenextrakt enthalten sind. Es stellte sich deshalb die Frage nach den Unterschieden der Bedürfnisse verschiedener Stämme und nach der chemischen Natur der wirksamen Stoffe.

Daß sich Pilze aus der Verwandtschaft der Gattung *Leucostoma* in ihren Wirkstoffansprüchen unterschiedlich verhalten können, war bekannt. Nach den Versuchen von Fries (1938) wächst *Valsa pini* Alb. et Schw. ohne Zusatz

praktisch nicht, mit Malzextrakt, Hefenextrakt oder A n e u r i n p l u s B i o t i n dagegen relativ gut. Sind Aneurin und Biotin gleichzeitig im Substrat vorhanden, vermag I n o s i t das Wachstum weiter zu steigern. Keiner dieser drei Stoffe fördert das Wachstum für sich allein. *Valsa ceratophora* Tul. dagegen wächst auf einem wuchstofffreien Substrat relativ gut, doch wird das Wachstum durch Hefenextrakt, Malzextrakt oder Aneurin auf das drei- bis vierfache gesteigert.

1. Die Wachstumsförderung durch Hefenextrakt

V e r s u c h s f r a g e : Welche *Leucostoma*-Stämme werden durch Hefenextrakt im Wachstum gefördert?

Wir verwendeten für diese Versuche die KHG-Lösung (S. 164) mit Zusatz von 20 g Agar je Liter. Die Pilze wuchsen in Reagenzgläsern bei 24 °C; bei der Hälfte der Röhrchen wurde der Hefenextrakt weggelassen. Zur Anwendung gelangte ausschließlich der Hefenextrakt der Difco Laboratories Inc., Detroit, Mich., USA (Bacto Yeast Extract). Nach Angaben von Dr. H. W. Schoenlein von den Difco Laboratories enthält er neben verschiedenen Spurenelementen eine Reihe von Aminosäuren (vor allem Asparaginsäure, Glutaminsäure, Glykokoll, Isoleucin, Leucin, Lysin, Phenylalanin, Threonin und Valin) und Vitaminen (vor allem Pyridoxin, Riboflavin und Nicotinsäure).

In Tabelle 6 sind als Beispiel die Ergebnisse mit einigen Stämmen von *Leucostoma nivea* zusammengestellt. Man ersieht daraus ohne weiteres, daß die m e i s t e n *L e u c o s t o m a*-S t ä m m e o h n e H e f e n e x t r a k t n i c h t o d e r n u r s e h r s c h l e c h t, m i t H e f e n e x t r a k t d a g e g e n s e h r g u t w a c h s e n. Auch der Stamm 620/1, der ohne Hefenextrakt ziemlich gut wächst, wird durch den Hefenextrakt noch deutlich im Wachstum gefördert. Derselbe

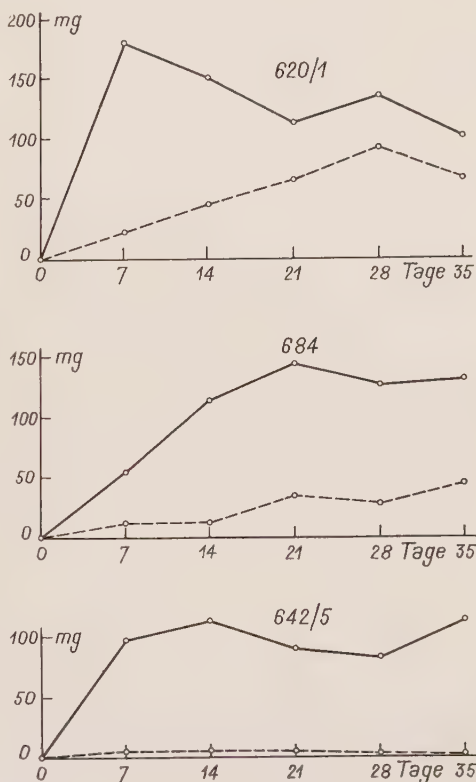


Abb. 10. W a c h s t u m von *Leucostoma nivea* 620/1 (Ann Arbor, Mich.), *L. Persoonii* 684 (Pellston, Mich.) und *L. nivea* 642/5 (Herblingen, Schaffhausen). Ausgezogene Kurve: m i t Hefenextrakt; gestrichelte Kurve: o h n e Hefenextrakt. Abszisse: Kulturzeit in Tagen. Ordinate: Myzelgewicht je Kolben (Erlenmeyer à 100 ml mit 20 ml Nährlösung)

Stamm 620/1 zeigt übrigens, daß Einsporkulturen aus demselben Fruchtkörper (620/1—3) in ihrem Verhalten wesentlich voneinander abweichen können. Die übrigen Arten, von denen ebenfalls zahlreiche Stämme geprüft wurden, ergeben das gleiche Bild; auch dort wachsen weitaus die meisten Stämme ohne Hefenextrakt gar nicht oder nur schwach und meist ohne wesentliche Farbstoffbildung.

Abb. 10 zeigt das Verhalten dreier Stämme auf flüssigen Nährmedien (KHG-Lösung mit und ohne Hefenextrakt, 27 ° C). Auch hier bestehen deutliche Stammesunterschiede. Stamm 620/1 wird in einer ersten Wachstumsphase durch Hefenextrakt wesentlich gefördert; das Myzelgewicht der Kulturen mit Hefenextrakt geht jedoch bald wieder zurück, während dasjenige in den Kulturen ohne Hefenextrakt während vier Wochen stetig ansteigt. Zum Schluß gleichen sich die Myzelgewichte weitgehend an. Stamm 684 wird während der ganzen Versuchsperiode durch Hefenextrakt sehr stark gefördert, und Stamm 642/5 wächst ohne Hefenextrakt praktisch gar nicht.

2. Die chemische Natur der Wirkstoffe

Wir prüften hier zunächst, ob die bekannteren Wachstumsfaktoren für Pilze (Aneurin, Biotin, Mesoinosit, Nikotinsäure u. a.; z. B. SCHOPFER, 1949) einzeln oder kombiniert das Wachstum unserer *Leucostoma*-Stämme förderten. Eine solche Wirkung war jedoch in keinem Falle nachzuweisen. Aminosäurepräparate (z. B. Casamino Acids der DIFCO Laboratories) verursachten bei wenigen Stämmen eine gewisse Wachstumsförderung, konnten aber den Hefenextrakt nicht annähernd ersetzen.

In der Folge mußte versucht werden, den Wirkstoffbedarf einzelner Stämme systematisch zu klären. Da die bekannten Inhaltsstoffe des Hefenextraktes einzeln oder kombiniert keine Wachstumsförderung bewirkten, wurde begonnen, den Hefenextrakt zu fraktionieren. Die Versuche sind zur Zeit noch im Gange und sollen an anderer Stelle ausführlich dargestellt werden.

E. Die Toxinbildung verschiedener Stämme

Auf Grund des Krankheitsverlaufs und der Erfahrungen mit anderen Pilzen (z. B. KERN, 1956; GÄUMANN, 1957) durfte erwartet werden, daß manche *Leucostoma*-Stämme imstande sind, Toxine zu bilden und mit diesen ihre Wirtspflanzen zu schädigen. Wir prüften deshalb zahlreiche Stämme auf die Welkewirkung ihrer Kulturfiltrate (für die Methodik der Tomatenteste vgl. z. B. KERN, 1952). Dabei zeigte sich rasch, daß sich auch hier die verschiedenen Stämme sehr unterschiedlich verhalten; die einen liefern regelmäßig hoch aktive Kulturfiltrate, während bei andern unter den verschiedensten Bedingungen keine Toxine nachweisbar waren.

Die Untersuchungen über die Toxinbildung einzelner Stämme sind noch im Gange; im folgenden seien nur zwei Fragen kurz gestreift.

1. Die chemische Natur der Toxine

Wenn auch noch keine *Leucostoma*-Toxine rein dargestellt werden konnten, zeigte sich doch bereits, daß wir mit mehreren Toxinen von unterschiedlicher chemischer Natur zu rechnen haben. In den Kulturfiltraten treten einerseits Stoffwechselprodukte auf, die sich mit organischen Lösungsmitteln extrahieren lassen und die vor allem Blattnekrosen usw. verursachen; daneben finden sich andere Stoffe, die an Tomatensprossen Gefäßbräunungen verursachen und die auch in ihrem chemischen Verhalten an die gefäßbräunenden Toxine des *Fusarium lycopersici*, die enzymatisch-eiweißartiger Natur sein dürften, erinnern (z. B. Gäumann, Stoll und Kern, 1953; Waggoner und Dimond, 1955, hier weitere Literatur).

2. Korrelationen zwischen Toxinbildung und anderen Merkmalen

Da wir zur Beurteilung dieser Fragen lediglich die unterschiedliche Toxizität der Kulturfiltrate zur Verfügung haben, können erst vorläufige Schlüsse gezogen werden. Immerhin darf gesagt werden, daß einzelne Stämme unabhängig von ihrer systematischen Stellung und Herkunft stark toxische Kulturfiltrate liefern, während bei anderen, im übrigen sehr ähnlichen Stämmen nie Toxine gefunden wurden. Auch mit den übrigen physiologischen Merkmalen ist die Toxinbildung nur ausnahmsweise korreliert. So ist es vielleicht kein Zufall, daß der Stamm 620/1 in bezug auf Pilzwuchsstoffe weitgehend autotroph und gleichzeitig stark toxigen ist, während die Stämme 620/2 und 620/3 heterotroph sind und kaum Toxine bilden. Bei anderen Stämmen überschneiden sich freilich diese Merkmale.

Auch für die Beziehungen der Toxinbildung zur Pathogenität in vivo besitzen wir erst wenige Anhaltspunkte. Immerhin fällt auf, daß zahlreiche mittel bis stark pathogene Stämme (663, 79, 640 u. a.) in vitro deutlich toxische Kulturfiltrate liefern. Die Vermutung, daß im Krankheitsgeschehen Toxine eine Rolle spielen, würde dadurch gestützt; doch gilt auch diese Beziehung nicht ohne Ausnahme.

F. Die Bildung der Hauptfruchtform

Es wurde bereits erwähnt, daß die *Leucostoma*-Stämme ihre Hauptfruchtform auf den infizierten Pflanzen nicht regelmäßig und nur unter besonderen Bedingungen bilden und daß der Bau der Fruchtkörper weitgehend von der Struktur der jeweiligen Unterlage beeinflußt wird. Wir versuchten deshalb, unsere Pilze in Reinkultur unter kontrollierten Bedingungen zur Ausbildung der Hauptfruchtform zu veranlassen.

Diese Versuche bestätigten zunächst lediglich die Erfahrungen früherer Autoren (z. B. Leonian, 1921; Wehmeyer, 1924), nach denen die Hauptfruchtform mit den üblichen Kulturmethoden nur

ausnahmsweise erhalten werden kann. Wir prüften hier eine größere Zahl von Stämmen auf den verschiedensten Substraten.

1. Versuche mit autoklavierten Zweigen

WEHMEYER (1924) erhielt mit einem Stamm von *Leucostoma Kunzei* auf sterilisierten Zweigen von *Thuja occidentalis* nach zwei Monaten reife Perithecien, auf Hafermehlagar dagegen nur die Nebenfruchtform. Ein von *Abies balsamea* isolierter Stamm von *L. Kunzei* bildete in unseren Versuchen nicht nur auf autoklavierten Zweigen von Koniferen, sondern auch auf solchen der verschiedensten Laubhölzer (*Populus nigra, Frangula Alnus, Sorbus Aria, Sorbus aucuparia* u. a.) Perithecien, Asci und keimfähige Ascosporen. Die Artzugehörigkeit des Holzes war also hier offensichtlich von untergeordneter Bedeutung.

Andere Stämme schritten nur ganz vereinzelt, wieder andere bis jetzt überhaupt nie zur Anlage der Hauptfruchtform. Das vegetative Wachstum und die Pyknidienbildung dagegen sind bei allen untersuchten Stämmen auf den verschiedensten Holzarten sehr intensiv; Unterschiede in bezug auf die Artzugehörigkeit des verwendeten Holzes konnten nicht gefunden werden.

2. Versuche mit kalt desinfizierten Zweigen

Die mit Propylenoxyd (HANSEN und SNYDER, 1947) desinfizierten Zweige verhielten sich gegenüber den autoklavierten nicht wesentlich verschieden. Der oben erwähnte Stamm von *Leucostoma Kunzei* bildete auch in diesen Versuchen auf Zweigen der genannten Hölzer leicht Perithecien und Asci; die unterschiedliche Artzugehörigkeit der Hölzer wirkte sich auch hier nicht aus. Andere Stämme bildeten wohl reichliches Myzel und zahlreiche Pyknidien, dagegen bis heute (auch in Mischkulturen mehrerer Stämme usw.) keine Perithecien.

3. Versuche mit synthetischen Nährmedien

Auf synthetischen Nährmedien fällt es dem genannten Stamm von *Leucostoma Kunzei* wesentlich schwerer, die Hauptfruchtform zu bilden. Auf Agarsubstraten verschiedener Zusammensetzung tat er es praktisch nie und verhielt sich darin gleich wie der von WEHMEYER (1924) untersuchte Stamm. Lediglich auf Filterhütchen, die in einer Nährlösung standen, traten vereinzelte Perithecien auf. Die günstigsten Bedingungen der Ernährung, Feuchtigkeit usw. treffen offenbar hier nur selten zusammen.

Andere Stämme bildeten auf Malzagar und ähnlichen Substraten ziemlich regelmäßig ihre Hauptfruchtform aus. Hier vermag das Licht die Perithecienbildung wesentlich zu verstärken und zu beschleunigen, ohne daß diese jedoch im Dunkeln vollständig unterbunden wäre.

Bei wieder anderen Stämmen endlich konnten die bestimmenden Faktoren der Perithecienbildung in zahlreichen Versuchen mit verschiedenen

Nährmedien, Zusätzen von Pflanzenextrakten, unterschiedlicher Feuchtigkeit, Mischkulturen verschiedener Stämme usw. noch nicht ermittelt werden. Die Arbeiten an diesen Problemen werden noch weitergeführt. Auch hier besteht aber kein Zweifel, daß sich die einzelnen Stämme sehr unterschiedlich verhalten können.

5. KAPITEL

Der Artbegriff in der Gattung *Leucostoma*

A. Folgerungen aus den bisherigen Untersuchungen

Die bisherigen Ergebnisse lassen sich dahin zusammenfassen, daß die Gattung *Leucostoma* eine große Zahl von weitgehend selbständigen Stämmen (Biotypen) umfaßt. Diese Stämme sind durch zahlreiche morphologische, physiologische und parasitologische Merkmale ausgezeichnet. Die Merkmale sind untereinander nicht in gesetzmäßiger Weise korreliert, sondern bilden für jeden Stamm ein charakteristisches Mosaik; sie lassen sich daher nicht oder nur in Ausnahmefällen dazu heranziehen, die Stämme in klar erkennbare Gruppen (Arten) zu gliedern.

Die Situation ist damit ähnlich wie in der Gattung *Fusarium* (z. B. Snyder und Hansen, 1945, 1954; Gäumann, 1951, S. 271), wo die starke Aufspaltung in Stämme keine scharfe Artentrennung mehr zuläßt. In anderen kritischen Gattungen stellen sich analoge Probleme. So lassen sich die Arten *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Scl. trifoliorum* Eriks. und *Scl. minor* Jagg. beim Vergleich einer größeren Zahl von Stämmen nicht sicher voneinander scheiden, sondern gehen fließend ineinander über (Purdy, 1955); es wird deshalb vorgeschlagen, alle diese Stämme zur einen Art *Scl. sclerotiorum* zu vereinigen.

Auch in der Gattung *Leucostoma* erscheint es angezeigt, den Umfang einer „Art" relativ weit zu fassen. Die Abgrenzung von praktisch brauchbaren Stammesgruppen ist zum Teil auf Grund der gröberen morphologischen Merkmale der Fruchtkörper möglich. Darüber hinaus wird man — wenigstens vorläufig — die systematische Stellung der Wirtspflanzen zu Hilfe nehmen; hier werden weitere Untersuchungen über die Bedingungen der Perithecienbildung in vivo und in vitro zweifellos in absehbarer Zeit zusätzliche Gesichtspunkte liefern. So wird sich die Gliederung der Gattung *Leucostoma* auch weiterhin zur Hauptsache auf den bestehenden Arten aufbauen. Manche der beschriebenen Arten würde heute zweifellos nicht mehr geschaffen (und verschiedene von ihnen sind auch bereits wieder fallen gelassen worden); wenn aber die Arten einmal bestehen, wird man eher die Tendenz haben, sie im

Zweifelsfall — wenn auch unter Vorbehalten — zu bewahren. Die Art darf jedoch im Falle der Gattung *Leucostoma* nicht als diskrete, in sich geschlossene Einheit im klassischen Sinne gelten; sie stellt eine weitgehend subjektiv umschriebene Gruppe von Stämmen dar, deren Grenzen immer wieder durchbrochen und verwischt werden können. Ähnliche Probleme der Artumschreibung stellen sich zum Beispiel in der Systematik der Blütenpflanzen bei den Formen mit gestörter Sexualität (z. B. Merxmüller, 1949). Wie in der Systematik dieser Blütenpflanzengruppen wird es auch bei *Leucostoma* notwendig sein, in weiteren Untersuchungen die Fragen der Entstehung neuer Stämme usw. in vermehrtem Maße zu prüfen.

Die Einordnung von *Leucostoma*-Stämmen ins bisherige System begegnet vor allem dort gewissen Schwierigkeiten, wo auf derselben Wirtspflanze mehrere *Leucostoma*-Arten beschrieben worden sind. Wie die Dinge hier liegen können, sei im folgenden an einem Beispiel erläutert.

B. *Leucostoma*-Arten auf *Sorbus aucuparia*

Auf *Sorbus aucuparia* L., dem Vogelbeerbaum, werden die folgenden *Leucostoma*-Arten angegeben:

1. *Leucostoma Persoonii* (Nit.) v. H.

Synonyme:

Sphaeria leucostoma Pers. (in Usteri, Annal. d. Bot. 2, 5 [1795], S. 23)

Sphaeria leucostoma Fr. (Syst. myc. II [1822], S. 387)

Valsa leucostoma Fr. (Summa veget. Scand.) II [1849], S. 411)

Valsa Persoonii Nitschke (Pyrenom. germ. [1867], S. 222)

Leucostoma Persoonii v. Höhnel (Nachgel. Schriften, Mitt. Bot. Inst. Techn. Hochschule Wien 5 [1928], S. 60)

Diese Art findet sich nicht nur auf dem Vogelbeerbaum und auf andern Arten der Gattung *Sorbus*, sondern auch auf verschiedenen *Prunus*-Arten (Kirschbaum, Pfirsichbaum usw.) und andern Rosaceen (vgl. Tabelle 5). Die Biologie der hierher gehörenden Stämme wurde von Défago (1935) eingehend untersucht.

2. *Leucostoma Massariana* (de Not.) v. H.

Synonyme:

Valsa Massariana de Not. (Sferiac. ital. [1863], S. 34)

Leucostoma Massariana v. Höhnel (Nachgel. Schr., Mitt. Bot. Inst. Techn. Hochschule Wien 5, [1928], S. 78)

Diese Art wird in der Literatur auf Grund der relativ breiteren und flacheren Stromata, vor allem aber auf Grund der größeren Ascosporen und längeren Konidien unterschieden. Die Länge der Ascosporen wird mit 20—26 μ (gegenüber 10—13 μ bei *L. Persoonii)* angegeben. Sie scheint ausschließlich auf *Sorbus aucuparia* gesammelt worden zu sein.

3. *Valsa (Leucostoma) excipienda* Karst.

Mycologia Fennica II (1873), S. 144

Diese Art stimmt im Fruchtkörperbau mit *L. Massariana* überein, wurde aber auf Grund der kleineren Ascosporen (9—12, seltener bis 24 μ lang) von ihr abgetrennt. VON HÖHNEL (1928) stellte sie jedoch wiederum zu *L. Massariana.*

Die ebenfalls von *Sorbus* beschriebene *Valsa sorbicola* Nit. (FUCKEL, Symb. myc. [1869], S. 198) ist nach VON HÖHNEL (1928) eine *Diaporthe. Valsella aucupariae* Kirschst. (Ann. Myc. *37* [1939], S. 134—135) mit vielsporigen Asci soll vorderhand von *Leucostoma* getrennt bleiben (vgl. S. 152).

Unsere Untersuchungen an *Leucostoma*-Stämmen auf *Sorbus aucuparia* erstreckten sich neben den selbst gesammelten Pilzen auf umfangreiches Herbarmaterial und mußten sich deshalb zur Hauptsache auf die morphologischen Eigenschaften beschränken. Es zeigte sich, daß die typischen Stämme von *Leucostoma Persoonii* und *L. Massariana* auf Grund des Fruchtkörperbaus ziemlich leicht auseinandergehalten werden können. Die typischen Merkmale können einander wie folgt gegenübergestellt werden:

Leucostoma Persoonii: Stroma unregelmäßig-eckig oder quer zur Astrichtung verlängert; Rand des Stromas unscharf (von außen keine Randlinie sichtbar), ziemlich steil und direkt zur Scheibe vorspringend; Scheibe groß, unregelmäßig-eckig, auffällig schneeweiß (im Alter grau werdend); Perithecienmündungen unregelmäßig auf der Scheibe zerstreut oder randständig; Ascostromata meist ohne zentrale Pyknidie.

Leucostoma Massariana: Stroma regelmäßig-rund; Rand des Stromas scharf (von außen häufig als schwarze Linie sichtbar), steil vorspringend und anschließend flach gegen die Scheibe zulaufend; Scheibe klein, rund, bräunlich; Perithecienmündungen randständig, einen schönen Kreis bildend; Ascostromata häufig mit zentraler Pyknidie.

Nicht alle Stämme entsprechen genau dem einen oder dem andern Typ, und hie und da wird man im Zweifel sein, wo der betreffende Pilz unterzubringen ist. Im allgemeinen ist jedoch die Einteilung brauchbar.

Abb. 11 zeigt die Verteilung der Ascosporenlängen einiger Stämme. Die Werte der drei Stämme von *Leucostoma Persoonii* (in der Abbildung gestrichelt) liegen im wesentlichen zwischen 8 und 13 μ und damit im Rahmen der auf anderen Wirtspflanzen gesammelten Stämme dieser Art. Die meisten

Stämme von *Leucostoma Massariana* (in der Abbildung ausgezogen) haben deutlich g r ö ß e r e S p o r e n mit den häufigsten Werten zwischen 14 und 22 μ, also in einem ziemlich weiten Bereich. Neben den abgebildeten Stämmen wurden zahlreiche weitere mit ähnlichen Sporenmaßen untersucht.

Nur wenige Pilze vom Fruchtkörpertypus der *Leucostoma Massariana* haben kleinere Sporen und gelangen damit in den Größenbereich der *Leucostoma Persoonii;* sie dürften der *Leucostoma excipienda* Karst. entsprechen. Sie sind jedoch von den Stämmen mit großen Sporen nicht scharf abzutrennen; es erscheint deshalb gerechtfertigt, *Leucostoma excipienda* Karst. nach von Höhnels Vorschlag (1928) m i t *L. M a s s a r i a n a* z u v e r e i n i g e n. Typische Stämme von *Leucostoma Persoonii* mit sehr g r o ß e n S p o r e n wurden bis jetzt nicht gefunden und dürften höchstens vereinzelt vorkommen. Jedenfalls kann die Ascosporenlänge zur Ergänzung der Fruchtkörpermerkmale für die Differenzierung der beiden Arten mit herangezogen werden; in Grenzfällen wird sie allerdings versagen.

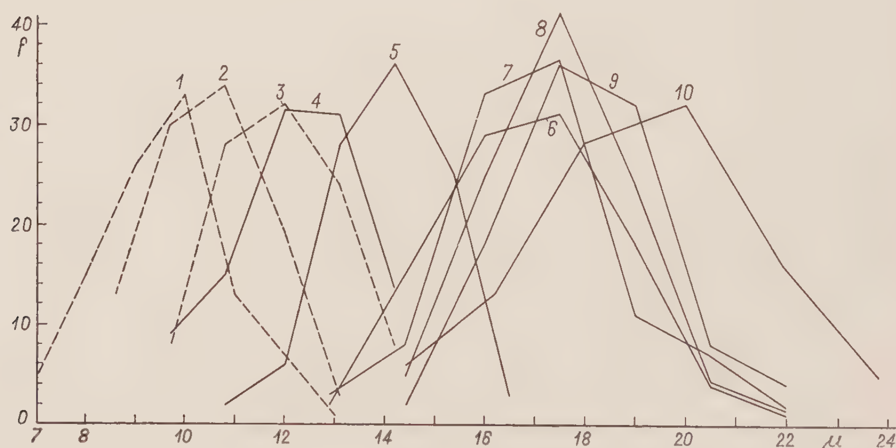


Abb. 11. A s c o s p o r e n l ä n g e n verschiedener *Leucostoma*-Stämme auf *Sorbus aucuparia* (je 100 Sporen). Ausgezogene Kurven: *Leucostoma Massariana* (de Not.) v. H. Gestrichelte Kurven: *L. Persoonii* (Nit.) v. H. Abszisse: Länge in μ. Ordinate: Frequenz f der einzelnen Größenklassen. Herkunft der Stämme: **1** Nante, Tessin (739). **2** Bergün, Graubünden (56/36). **3** Escheburg, Schleswig-Holstein; leg. O. Jaap (56/52). **4** Müstair, Graubünden (54/48). **5** Bergün, Graubünden (56/35). **6** Arber, Bayern; leg. H. Sydow (56/23). **7** Schmiedeberg, Schlesien; leg. Rupprecht (56/14). **8** Freudenthal, Schlesien; leg. Weese (56/15). **9** Böhm. Erzgebirge; leg. Kupka (56/37). **10** Bever, Graubünden (56/4)

Die beiden Arten lassen sich unter Umständen am selben Ort nebeneinander finden. So konnten auf Vogelbeerzweigen von Bergün (Graubünden) die Fruchtkörper von *Leucostoma Massariana* und von *L. Persoonii* leicht getrennt werden; die beiden dort vergesellschafteten Stämme unterscheiden sich auch in der Länge ihrer Ascosporen (Kurven 2 und 5 der Abb. 11).

C. *Leucostoma*-Arten auf anderen Wirtspflanzen

Ähnliche Probleme stellen sich bei der systematischen Einordnung von *Leucostoma*-Pilzen auf anderen Wirtspflanzen. So werden auf Weiden die beiden Arten *L. translucens* (de Not.) v. H. und *L. Auerswaldii* (Nit.) v. H. erwähnt. Die erstere Art ist auf Salix beschränkt und durch die auffallenden, rund um die Mündungsscheibe glänzend schwarz durch das Periderm scheinenden Stromata charakterisiert. Die letztere Art besiedelt auch andere Pflanzen (vor allem *Frangula Alnus,* aber auch *Fagus, Betula* u. a.) und steht im Fruchtkörperbau *Leucostoma Persoonii* sehr nahe; außer der Scheibe ist vom Stroma von außen kaum etwas sichtbar, und eine scharfe Randlinie ist nicht zu erkennen.

Nun kommen aber die glänzend schwarz durchscheinenden, oft von einer scharfen Randlinie begrenzten Stromata fast ausschließlich auf jungen Weidenzweigen mit dünnem Periderm vor; auf älteren Zweigen verlieren sie dieses Aussehen zusehends und sind von den Fruchtkörpern von *Leucostoma Auerswaldii* oder *L. Persoonii* kaum mehr zu unterscheiden. Der Zustand des Substrates spielt also hier eine entscheidende Rolle. Die Ascosporenlängen der beiden genannten Arten liegen im selben Größenbereich; die Abgrenzung zwischen *Leucostoma translucens* und *L. Auerswaldii* muß daher als zweifelhaft gelten.

Einfacher liegen die Dinge bei denjenigen Wirtspflanzen, auf denen nur eine *Leucostoma*-Art beschrieben wurde. So werden *Leucostoma*-Pilze auf Pappeln weiterhin in der Art *L. nivea* (Fr.) v. H. vereinigt werden können, wenn auch deren Abgrenzung gegenüber *L. Persoonii* und andern Arten im übrigen eher unsicher erscheint.

Die Umschreibung derartiger kritischer Arten bzw. Stammesgruppen erfordert umfangreiches Vergleichsmaterial. Wir erachten es deshalb noch als verfrüht, für die Gattung *Leucostoma* eine definitive und umfassende Gliederung vorzuschlagen, hoffen aber, nach weiteren Untersuchungen (auch in den Gattungen *Valsa* und *Valsella*) zu diesem Ziel zu gelangen.

Zusammenfassung

1. Die Pilze der Gattung *Leucostoma* besiedeln Zweige und Äste der verschiedensten Bäume und Sträucher. Ihre Fruchtkörper bestehen aus einem vegetativen Stroma, das von einem schwarzen Konzeptakel eingeschlossen ist, und den darin eingelagerten Perithecien (Abb. 1). Die Asci zeigen einen charakteristischen Apikalring; die Ascosporen sind farblos und würstchenförmig-gekrümmt (allantoid; Abb. 2). Die Mündungsscheibe der Fruchtkörper ist oft auffallend schneeweiß (Abb. 3).

2. In dieser Gattung sind zahlreiche Arten beschrieben, die nur schwer auseinandergehalten werden können. Wir versuchten deshalb, für die Artumschreibung eine bessere Grundlage zu gewinnen.

3. Die Gattung *Leucostoma* besteht aus zahlreichen selbständigen Stämmen (Biotypen), die sich voneinander morphologisch, parasitologisch und physiologisch unterscheiden.

4. Die feineren morphologischen Merkmale (zum Beispiel die Länge der Ascosporen) gehen auch bei nahe verwandten Stämmen oft sehr stark auseinander. Die Ascosporenmaße der verschiedenen Stämme einer Art (im gebräuchlichen Sinne) können sich deshalb über einen größeren Streuungsbereich verteilen (Abb. 5 und 11).

5. Die Pathogenität nahe verwandter Stämme ist oft sehr unterschiedlich (Tabelle 3); neben sehr aggressiven und pathogenen Stämmen finden sich solche, die kaum lebende Pflanzen befallen können. Der Krankheitsverlauf wird auch von der Disposition der Wirtspflanze wesentlich beeinflußt.

6. Das Wirtsspektrum ist in manchen Fällen weit und umfaßt Pflanzen aus verschiedenen Reihen. Keiner der untersuchten Stämme, die überhaupt pathogen waren, blieb im Infektionsversuch auf die Wirtspflanze beschränkt, von der er ursprünglich isoliert worden war.

7. Die Bildung der Hauptfruchtform erfolgt auf den infizierten Pflanzen und in Reinkulturen nur sporadisch und ist an besondere Bedingungen gebunden, die im einzelnen noch nicht geklärt sind.

8. Die Reinkulturen der verschiedenen Stämme können in der Farbe (Tabellen 4 und 5), in der Wachstumsgeschwindigkeit (Abb. 9), in den Temperaturansprüchen, im Nährstoffbedarf und in der Toxinbildung wesentlich voneinander abweichen. Charakteristische Unterschiede zwischen den Arten konnten dagegen nicht gefunden werden.

9. Alle beschriebenen Merkmale sind untereinander nicht in gesetzmäßiger Weise korreliert, sondern bilden ein für den einzelnen Stamm charakteristisches Mosaik. Für die Artumschreibung bieten sie daher keine oder nur geringe Anhaltspunkte.

10. Mit Hilfe der gröberen morphologischen Merkmale ist es möglich, gewisse Stämme in Gruppen zusammenzufassen (Abb. 11). Die auf diese Weise umschriebenen Arten bilden keine geschlossene Einheit im klassischen Sinne, sondern eine weitgehend subjektiv definierte Gruppe von Stämmen, deren Grenzen immer wieder durchbrochen und verwischt werden können. Für eine umfassende Gliederung der Gattung wird es notwendig sein, die Beziehun-

gen der einzelnen Stämme zu ihren Wirtspflanzen (Haupt- und Nebenwirte usw.; vgl. S. 14) genauer zu untersuchen. Innerhalb der so umschriebenen Art bildet der einzelne Stamm die biologische Einheit.

Summary

1. The fungi of the genus *Leucostoma* live in the bark of various trees and shrubs. Their perithecia are embedded in a vegetative stroma surrounded by a black conceptacle (fig. 1). The asci are characterised by an apical ring; the ascospores are hyaline and allantoid (fig. 2). In many cases, the disc of the fructification appears pure white (fig. 3).

2. The delimitation of various *Leucostoma* species is rather doubtful. The present work attempts to clarify the bases of taxonomy and the species concept in this genus.

3. In the genus *Leucostoma*, numerous indepent strains (biotypes) were found which differ in their morphological, parasitic and physiological characteristics.

4. Among the morphological characteristics, the ascospore size of closely related strains may vary to a great extent (fig. 5 and 11).

5. The pathogenicity of related strains may be very different (table 3); there are highly pathogenic strains and others which generally live as saprophytes.

6. The host range of many strains is rather broad and includes host plants from various families and orders.

7. On the inoculated host plant and in pure culture, perithecia were formed in very few cases only.

8. Pure cultures of the *Leucostoma* strains may vary in colour (table 4 and 5), intensity of growth (fig. 9), temperature range, nutritional requirements and formation of toxins.

9. All the characteristics described are in no way correlated but form an individual pattern for each strain. Only in a few cases they are useful for the delimitation of species.

10. Based on the general morphology of the fructifications it is possible to group certain strains into "species". It must be emphasized that these species do not represent clear unities in the classical sense but rather subjective groups of strains without sharp limits. The delimitation of some species may become clearer with a better knowledge of the host-parasite-relationships of these fungi (p. 14).

Die vorliegende Arbeit wurde durch den Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung ermöglicht; seinen Behörden sei auch an dieser Stelle der beste Dank ausgesprochen. Ein Teil des untersuchten Materials konnte ferner mit Unterstützung durch die Stiftung für biologisch-medizinische Stipendien und durch die Kommission zur wissenschaftlichen Erforschung des Schweizerischen Nationalparks gesammelt werden.

Für die großzügige Förderung meiner Arbeiten möchte ich vor allem Herrn Prof. Dr. E. Gäumann herzlich danken. Zahlreiche Institutsmitarbeiter, an erster Stelle Frl. E. Weber und Herr Obergärtner F. Humm, haben mich tatkräftig unterstützt, und meine Frau führte eine große Zahl von Sporenmessungen aus; ihnen allen sei auch hier herzlich gedankt.

Für die Beschaffung zahlreicher Versuchspflanzen danke ich den Herren Prof. Dr. H. Burger, Prof. Dr. A. Kurth und Dr. F. Fischer (Eidg. Anstalt für das forstliche Versuchswesen, Zürich), Prof. Dr. F. Kobel und Dr. R. Fritzsche (Eidg. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, Wädenswil), Dr. E. Marcet (Eidg. Technische Hochschule) und A. Persson (Verein für Forstpflanzenzüchtung, Ekebo, Schweden).

Umfangreiches Herbarmaterial wurde mir in großzügiger Weise von zahlreichen Institutionen zur Verfügung gestellt, so von den Botanischen Instituten der Universitäten Bern (Prof. Dr. M. Welten), Genf (Prof. Dr. Ch. Baehni), Neuenburg (Prof. Dr. Ch. Terrier), Padua (Prof. Dr. C. Cappelletti) und Uppsala (Prof. Dr. J. A. Nannfeldt), von der Botanischen Staatssammlung München (Dr. H. Merxmüller), vom Naturhistorischen Reichsmuseum Stockholm und vom Botanischen Garten New York (Dr. D. P. Rogers).

Literaturverzeichnis

von Arx, J. A. und E. Müller, 1954: Die Gattungen der amerosporen Pyrenomyceten. Beitr. Krypt.flora Schweiz **11**, Nr. 1, 434 S.

Butin, H., 1955: Über den Einfluß des Wassergehaltes der Pappel auf ihre Resistenz gegenüber *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr. Phytopath. Z. **24**, 245—264.

Christensen, C. M., 1940: Studies on the biology of *Valsa sordida* and *Cytospora chrysosperma*. Phytopathology **30**, 459—475.

Défago, G., 1935: De quelques Valsées v. H. parasites des arbres à noyau dépérissants. Beitr. Krypt.flora Schweiz **8**, Nr. 3, 109 S.

Ellis, J. B. und B. M. Everhart, 1892: The North American Pyrenomycetes. Newfield, N. J., 793 S.

Fries, N., 1938: Über die Bedeutung von Wuchsstoffen für das Wachstum verschiedener Pilze. Symb. Bot. Upsal. **3**, Nr. 2, 188 S.

Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. Birkhäuser, Basel, 681 S.

— —, 1957: Über Fusarinsäure als Welketoxin. Phytopath. Z. **29**, 1—44.

— —, Ch. Stoll und H. Kern, 1953: Über Vasinfuscarin, ein drittes Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z. **20**, 345—347.

Hansen, H. N. und W. C. Snyder, 1947: Gaseous sterilization of biological materials for use as culture media. Phytopathology **37**, 369—371.

von Höhnel, F., 1917: System der Diaportheen. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **35**, 631—638.

— —, 1918 a: Über die allantoidsporigen Sphaeriaceen. Ann. myc. **16**, 127—132.

— —, 1918 b: Über die Gattung *Valsa* Fr. sensu Nitschke. Ann. myc. **16**, 134—135.

— —, 1928: Valseen und *Cytospora* auf Pomaceen in Europa. Mitt. Bot. Inst. Techn. Hochschule Wien **5**, 77—86.

Kern, H., 1952: Über die Beziehungen zwischen dem Alkaloidgehalt verschiedener Tomatensorten und ihrer Widerstandsfähigkeit gegen das *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z. **19**, 351—382.

— —, 1955 a: Taxonomic studies in the genus *Leucostoma*. Papers Michigan Acad. Sc. A. L. **40**, 9—22.

— —, 1955 b: Physiologische Untersuchungen an Ascomyceten aus der Gattung *Leucostoma*. Verh. Schweiz. Naturf. Ges. 1955, 143—144.

— —, 1956: Problems of incubation in plant diseases. Ann. Rev. Microbiology **10**, 351—368.

Leonian, L. H., 1921: Studies on the *Valsa* apple canker in New Mexiko. Phytopathology **11**, 236—243.

Linder, A., 1951: Statistische Methoden für Naturwissenschafter, Mediziner und Ingenieure. 2. Aufl. Birkhäuser, Basel, 238 S.

Lodder, J. und N. J. W. Kreger-van Rij, 1952: The Yeasts. North-Holland Publ. Comp., Amsterdam, 713 S.

Luttrell, E. S., 1951: Taxonomy of the Pyrenomycetes. Univ. Missouri Studies **24**, Nr. 3, 120 S.

Merxmüller, H., 1949: Fragen des Artbegriffes in der Botanik. Naturwiss. Rundschau **2**, 68—73.

Mix, A. J., 1953: Differences of species of *Taphrina* in culture. Utilization of nitrogen compounds. Mycologia **45**, 649—670.

— —, 1954: Differentiation of species of *Taphrina* in culture. Utilization of carbon compounds. Mycologia **46**, 721—727.

Münch, E., 1909: Untersuchungen über Immunität und Krankheitsempfänglichkeit der Holzpflanzen. Naturw. Z. Land- u. Forstw. **7**, 54—75, 87—114, 129—160.

Nannfeldt, J. A., 1932: Studien über die Morphologie und Systematik der nichtlichenisierten Inoperculaten Discomyceten. Nova Acta r. Soc. Sci. upsaliensis Ser. IV, **8**, Nr. 2, 368 S.

Nitschke, Th., 1867: Pyrenomycetes Germanici. Breslau, 320 S.

Persson, A., 1955: Kronenmykose der Hybridaspe. Phytopath. Z. **24**, 55—72.

Petrak, F., 1921: Über die Gattungen *Leucostoma* (Nit.) v. H. und *Leucocytospora* v. H. Ann. Myc. **19**, 128.

— —, 1923 a: Über die Pseudosphaeriaceen v. H. und ihre Bedeutung für die spezielle Systematik der Pyrenomyzeten. Ann. Myc. **21**, 30—69.

— —, 1923 b: Über die Gattung *Valsella* Fuck. Ann. Myc. **21**, 227—230.

— —, 1940: Zur Synonymie einiger Pilze. Ann. Myc. **38**, 265—267.

Purdy, L. H., 1955: A broader concept of the species *Sclerotinia sclerotiorum* based on variability. Phytophathology **45**, 421—427.

Ruhland, W., 1900: Untersuchungen zu einer Morphologie der stromabildenden Sphaeriales. Hedwigia **39**, 1—79.

Saccardo, P. A., 1882: Sylloge fungorum. Band **1**. Padua, 766 S.

Schopfer, W. H., 1949: Plants and vitamins. Chronica Botanica, Waltham, Mass., 293 S.

Snyder, W. C. and H. N. Hansen, 1945: The species concept in *Fusarium* with reference to *Discolor* and other sections. Amer. J. Bot. **32**, 657—666.

— —, — —, 1954: Variation and speciation in the genus *Fusarium*. Ann. New York Acad. Sci. **60**, 16—23.

Stoll, Ch., 1954: Über Stoffwechsel und biologisch wirksame Stoffe von *Gibberella fujikuroi* (Saw.) Woll., dem Erreger der Bakanaekrankheit. Phytopath. Z. **22**, 233—274.

Waggoner, P. E. and A. E. Dimond, 1955: Production and role of extracellular pectic enzymes of *Fusarium oxysporum f. lycopersici*. Phytopathology **45**, 79—87.

Waterman, A. M., 1955: The relation of *Valsa kunzei* to cankers on conifers. Phytopathology **45**, 686—692.

Wehmeyer, L. E., 1924: The perfect stage of the Valsaceae in culture and the hypothesis of sexual strains in this group. Papers Michigan Acad. Sc. A. L. **4**, 395—412.

— —, 1926: A biological and phylogenetic study of the stromatic Sphaeriales. Amer. J. Bot. **13**, 575—645.

— —, 1942: Contributions to a study of the fungous flora of Nova Scotia. Can. J. Research **20**, 572—594.

Winter, G., 1887: Gymnoascaceen und Pyrenomyceten. Rabenhorst's Kryptogamenflora Bd. **1**, 2. Abt., Leipzig, 976 S.

Zähner, H., und L. Ettlinger, 1957: Zur Systematik der Actinomyceten. 3. Die Verwertung verschiedener Kohlenstoffquellen als Hilfsmittel der Artbestimmung innerhalb der Gattung *Streptomyces*. Arch. Mikrobiol. **26**, 307—328.

Laboratorio Crittogamico Italiano — Pavia
Direttore: Prof. Raffaele Ciferri

Una variegatura virus-simile delle foglie di ciliegio *)

di

DINO PICCO e GIOVANNI SCARAMUZZI

Con 4 figure

Nel Giugno del 1955, nell'Azienda dei F.lli Bezza, sita nel Comune di Roccabianca (prov. di Parma), era stata da noi osservata una caratteristica sintomatologia delle foglie di una trentina di giovani piante di Ciliegio dolce della cultivar „Bigarreau Moreau", a drupe scure, grosse, a polpa dura ed a maturazione precoce. Tali piante risultano innestate su ciliegi selvatici da seme nel Marzo del 1953, con marze provenienti dalla zona di Cesena, dove la stessa cultivar era stata a sua volta introdotta, anni addietro, probabilmente dalla Francia.

La località su indicata, che è una zona di golena, a terreno piuttosto sciolto, non è tradizionalmente ciliegicola. Questo giovane ciliegeto è stato impiantato dall'attuale mezzadro, Sign. Farabegoli Nello, della zona di Cesena, e comprende, oltre alla cv. „Bigarreau Moreau", anche diverse altre cultivar come la „Durella", la „Fior di Maggio", la „Duorna di Vignola", ecc., per un complessivo di un centinaio circa di piante.

La manifestazione su menzionata si riscontra, però, soltanto sulle piante della cv. „Bigarreau Moreau", mentre tutte le altre ne risultano esenti. Essa comparve, a detta dell'agricoltore, sin dal primo anno dell'innesto dei selvatici da seme, ed interessa quasi tutta la „chioma delle stesse piante".

L'analogia dei suoi sintomi con quelli più volte osservati da uno di noi su foglie di Ciliegio dolce prelevate occasionalmente durante alcune visite a ciliegeti in altri Paesi, e attualmente conservate in erbario, nonchè con quelli ormai ampiamente descritti ed illustrati nella letteratura corrente, hanno consentito di orientarci sin dall'inizio sulla eziologia non parassitaria di tale malattia, anche se i suoi sintomi possono essere facilmente confusi con quelli di frequente osservabili nel caso di infezioni virosiche.

Comunque, abbiamo ritenuto opportuno di accertare sperimentalmente la suddetta ipotesi eziologica e quindi di illustrare la malattia in questione anche con un'adeguata documentazione fotografica dei suoi sintomi, poichè

*) Contribuzione n. 33 della Commissione per lo studio delle malattie epidemiche, non crittogamiche, dei Fruttiferi — Sottocommissione per l'Italia Settentrionale.

non ci risulta che essa sia stata ancora messa in evidenza in Italia — a parte una semplice illustrazione riportata di recente, e per inciso, da G. Goidanich (1956) —.

Sintomatologia

Come è stato già detto, la sintomatologia fogliare che segnaliamo si riscontra su tutte le piante della cv. „Bigarreau Moreau" dell'Azienda su indicata e soltanto su queste. Una valutazione a vista ha consentito di apprezzare approssimativamente la percentuale di foglie ammalate rispetto al totale delle foglie di ciascuna pianta. Tale percentuale è variabile fra il 20 % ed il 90 %, con maggiore e più netta frequenza delle percentuali più alte. Le foglie ammalate, infine, si trovano, sui rametti, frammiste ad altre di colore verde normale e sane, e senza un ordine fisso rispetto a queste ultime.

Il sintomo caratteristico sulle foglie è rappresentato da una irregolare variegatura della lamina, sulla quale spiccano con evidenza aree più o meno ampie di colore verde chiaro sfumante subito in tonalità più chiare e quindi in un colore bianco crema variamente intenso. Questa variegatura può essere grossolanamente distinta in due tipi, che possono anche coesistere sulla stessa foglia: a) una variegatura più minuta, a volte anche quasi del tipo picchiettatura, interessante in genere gran parte della lamina fogliare, o solo una parte di questa (fig. 1); b) una variegatura più intensa e più larga, gradualmente sfumante dal verde chiaro al bianco crema, senza margini netti, interessante il più delle volte la gran parte della lamina stessa, e conferendo alla foglia un aspetto caratteristico facilmente individuabile anche a distanza (fig. 2 e 3). Nei casi estremi, e in genere in un periodo più o meno avanzato della stagione, si riscontrano a volte anche delle zone di tessuti necrotici, in corrispondenza delle aree di colore crema più intenso, spesso lungo i margini della lamina. Tali aree necrotiche finiscono poi col cadere, lasciando la foglia variamente perforata od anche a margini del tutto irregolari, come se rosa da Insetti (fig. 3).

Molto spesso, alla variegatura della lamina si accompagna anche una deformazione più o meno pronunciata di questa, come conseguenza di un arresto o di un rallentamento dell'accrescimento dei tessuti nei punti in cui la variegatura stessa è più intensa, sicchè le foglie assumono anche una forma anormale, risultando a volte anche non più facilmente identificabili con la specie arborea a cui appartengono.

I sintomi fogliari sopra descritti si rendono visualmente apprezzabili già poco dopo la prima emissione delle foglie e, in genere, quando la lunghezza del nuovo germoglio è superiore ai 10 cm. circa. Le piante le cui foglie mostrano in forte percentuale la variegatura in questione, denunciano spesso una defogliazione anticipata anche di 1—2 settimane rispetto alle altre.

Tali sintomi fogliari permangono sulla pianta per tutto il periodo vegetativo annuale, senza apprezzabili variazioni in relazione all'andamento climatico, e si riproducono ogni anno, anche se forse non sempre con la stessa ampiezza ed intensità, sulla medesima pianta.



Fig. 1. Foglie di Ciliegio dolce con i sintomi della minuta variegatura virus-simile. (Sweet cherry leaves showing the symptoms of "non-transmissible variegation")



Fig. 2. Foglie di Ciliegio dolce con i sintomi della più ampia variegatura virus-simile. (Sweet cherry leaves showing the symptoms of the large "non-transmissible variegation")



Nessun sintomo particolare è stato possibile notare sui frutti, sopratutto per il fatto che, essendo le piante molto giovani, hanno portato soltanto un numero limitatissimo di drupe e, su queste almeno, non si è riscontrata alcuna particolare differenza da quelle normali e caratteristiche della cultivar. Nè è stato possibile apprezzare l'eventuale influenza della malattia sulla produzione quantitativa delle drupe stesse.

Fig. 3. Come alla fig. 2; le foglie sono variamente perforate ed a margini molto irregolari. (As in fig. 2; the leaves are variously perforated and with irregular borders)

Tentativi di trasmissione sperimentale

L'accertamento della eziologia non virosica dei sintomi fogliari che abbiamo descritto poteva essere effettuato soltanto attraverso una loro eventuale riproduzione sperimentale, a mezzo di innesto, sulle foglie di piante sane utilizzate come soggetto.

A tale scopo, nell'Agosto del 1955, fu eseguito un certo numero di innesti „ad occhio" sia su piante di Susino della cv. „Scanarda", presenti nella stessa Azienda, sia su alcuni giovani ciliegi selvatici da seme, prelevando le marze relative da piante di „Bigarreau Moreau" sulle quali erano particolarmente numerose le foglie con la tipica variegatura descritta.

In aggiunta a questi, e per una migliore garanzia di ottenere risultati il più ampiamente dimostrativi, si provvide anche ad eseguire un'ulteriore serie di innesti, „a spacco", nel Marzo dell'annata scorsa 1956, utilizzando marze da piante analoghe alle precedenti e, come soggetti, ancora piante di Susino della cv. „Scanarda" e giovani ciliegi selvatici da seme.

Le osservazioni furono continuate per tutta l'annata 1956. Solo una piccola parte degli innesti eseguiti, sopratutto di quelli „ad occhio" su Susino, non attecchirono, sicchè fu possibile avere a disposizione, nel 1956, un sufficiente numero di nuovi germogli provenienti dagli innesti eseguiti.

In tutti i casi esaminati, sia sul Susino sia sui ciliegi selvatici da seme, la tipica variegatura riapparve su quasi tutte le foglie dei nuovi germogli

provenienti dalle marze innestate. Viceversa, nessuna delle foglie dei soggetti, anche di quelle più immediatamente contigue allo stesso punto di innesto, denunciarono la comparsa di detti sintomi; queste ultime risultarono perfettamente normali per tutto il periodo delle nostre osservazioni.

Discussione dei risultati e conclusioni

Dai risultati ottenuti appare, dunque, che la sintomatologia fogliare in questione non è trasmissibile per innesto alle piante utilizzate come soggetto. Pertanto, si deve escludere una sua eziologia virosica, anche se i sintomi appaiono molto analoghi e facilmente confondibili con quelli determinati spesso da virus.

In realtà, alle prove da noi eseguite, sarebbe possibile obbiettare che, di frequente, la trasmissione di una virosi — specie nel caso di piante arboree da frutto — può richiedere un periodo di tempo abbastanza lungo, a volte anche di più anni, perchè essa si renda manifesta, e pertanto le osservazioni da noi condotte potrebbero essere considerate troppo limitate nel tempo. Così come potrebbe essere osservato che sarebbe stato opportuno saggiare l'eventuale riproduzione dei sintomi anche su piante normali di Ciliegio della stessa cv. „Bigarreau Moreau“, sulla quale la malattia è stata riscontrata in natura, per escludere anche l'eventualità che potesse trattarsi di una virosi sintomatologicamente evidente sulle piante della suddetta cultivar (da considerarsi, in questo caso, una buona „indicatrice“ della supposta virosi), e non altrettanto su Susino o su ciliegi selvatici da seme. Ma, al momento delle nostre prove, non avevamo a disposizione questo materiale di saggio, poichè — come è stato rilevato — tutte le piante di „Bigareau Moreau“ dell'Azienda mostravano i sintomi fogliari descritti.

Bisogna però convenire che le osservazioni su riportate sono, nel nostro caso, di entità piuttosto trascurabile, se si tien conto — come abbiamo già detto in precedenza — che la sintomatologia da noi illustrata è sin troppo caratteristica ed ormai ampiamente riportata nella letteratura corrente. Essa corrisponde al „non-transmissible variegation“ descritta, ad esempio, da Posnette (1954), in Inghilterra, alla „panachure“ riportata da Bovey (1954) ed alla „nicht infektiöse Panaschierung“ riportata da Blumer (1955), in Svizzera, sempre su Ciliegio dolce. La stessa sintomatologia è stata indicata anche col termine di „white crinkle“ (comunicazione verbale del Dr. L. C. Cochran ad uno di noi), per distinguerla da un'altra manifestazione virus-simile delle foglie di Ciliegio, il „crinkle“, che ha qualche analogia sintomatologica con la presente. Probabilmente questa sintomatologia corrisponde anche al „cherry marbling“ del Ciliegio segnalato in Nuova Zelanda (1954), ed in un primo tempo attribuita a virus.

Comunque, a parte le diverse denominazioni, la suddetta variegatura delle foglie di Ciliegio è ormai universalmente attribuita ad una mutazione gemmaria.

Si consideri, inoltre, che variegature analoghe e virus-simili sono riportate oggi per diverse altre specie arboree da frutto, fra le quali il Melo, il Susino, ecc., e che uno di noi, di recente, ne ha descritta anche una per il Mandorlo (Scaramuzzi, 1956; 1957).

Riteniamo valga la pena, a questo proposito, di riportare anche una illustrazione fotografica di foglie di Ciliegio fortemente infestate dalla „Cicalina verde" (*Cicadella viridis* L.), sulla cui pagina superiore si rende evidente una minuta e fine maculatura clorotica o di colore bianco sporco (fig. 4), dovuta specificamente all'azione di questo Emittero ed a volte facilmente confondibile dall'agricoltore con sintomi di altra natura, fra i quali anche quelli da noi riportati in questa Nota, ed in particolare quelli rappresentati dalla variegatura più minuta, del tipo picchiettatura (fig. 1).



Fig. 4. Foglie di Ciliegio con fine e minuta maculatura dovuta ad attacchi di „Cicalina verde" (*Cicadella viridis* L.).
(Cherry leaves damaged by *Cicadella viridis* L.)

Nel caso da noi studiato, è evidente che le marze della cv. „Bigarreau Moreau" utilizzate per l'innesto dei ciliegi selvatici da seme, nella su indicata località, provengono, con tutta probabilità, da un'unica pianta-madre della zona di Cesena, a sua volta già con i sintomi fogliari da noi illustrati.

Si può dunque concludere che la malattia descritta, nonostante non risulti di natura infettiva, pur tuttavia ha la sua importanza nella pratica arboricola, poichè determina la necessità che venga accuratamente scartato da un'eventuale utilizzazione per la riproduzione vegetativa delle cultivar, tutto quel materiale che ne manifesti i sintomi. Questi, infatti, si conservano e si perpetuano in detto materiale, pur non interessando le altre parti delle piante utilizzate come soggetto, dando luogo a piante meno vigorose, meno produttive e sopratutto meno longeve, anche se apparentemente, il più delle volte, queste caratteristiche negative possono sfuggire all'osservazione dell'agricoltore, specie nei primi anni di vita della pianta stessa.

Riassunto

E' segnalata una caratteristica sintomatologia su foglie di Ciliegio dolce della cv. „Bigarreau Moreau“ consistente in una variegatura irregolare e più o meno ampia della lamina fogliare nella provincia di Parma. Questi sintomi fogliari interessano solo la chioma di tutte le piante della cv. „Bigarreau Moreau“, mentre le piante delle altre cultivar ne risultano esenti. I risultati costantemente negativi circa un'eventuale trasmissione della malattia su piante di Susino della cv. „Scanarda“ e su ciliegi selvatici da seme, a mezzo di innesto, consentono di escludere una sua eziologia di natura virosica. Con l'innesto, infatti, si ha la riproduzione degli stessi sintomi fogliari sui germogli derivanti dalla marza innestata, ma in nessun caso sulle foglie della pianta utilizzata come soggetto. L'analogia dei sintomi riscontrati con quelli riportati nella letteratura corrente, anche per altre specie arboree da frutto, nonchè con quelli più volte osservati di persona su foglie di Ciliegio dolce in altri Paesi, permettono di identificare la malattia con la „variegatura non infettiva“, probabilmente attribuibile a mutazione gemmaria (corrispondente alla „non-transmissible variegation“, al „white crinkle“, alla „panachure“, alla „nicht infektiöse Panaschierung“, e forse anche al „cherry marbling“).

Nonostante che la malattia non sia di origine infettiva, pur tuttavia va segnalata all'attenzione degli agricoltori perchè non venga utilizzato per la moltiplicazione vegetativa delle cultivar quel materiale che ne manifesti i sintomi, col quale si produrrebbero piante meno vigorose, meno produttive e meno longeve. Nel caso riportato, è presumibile che le marze di „Bigarreau Moreau“ utilizzate provengano tutte da una stessa pianta che già aveva i sintomi della malattia.

I sintomi descritti possono essere facilmente confusi con quelli frequentemente osservabili nel caso di infezioni virosiche.

Summary

The symptomatology on sweet cherry leaves of „Bigarreau Moreau“ variety, consisting in an irregular variegation of the leaf blade, is reported in the province of Parma. Only the trees of „Bigarreau Morreau“ variety show these leaf symptoms, the other varieties beeing symptomless. The results obtained by budding and grafting in transmitting the disease on Plum of „Scanarda“ variety and on cherry seedlings, have been always negative. The same symptoms have been reproduced only on the shoots from scions budded and grafted, but in no case on the leaves of the rootstocks. The disease has been identified with the „non-infectious variegation“ probably connected with bud mutation (also called „non-transmissible variegation“, „white crinkle“, „panachure“, „nicht infektiöse Panaschierung“, „cherry marbling“).

Notwithstanding its non-infectious ethiology, the disease is to be pointed out to the fruitgrowers attention, to avoid the use of diseased scions in the multiplication of the varieties, with which less vigorous, productive and long-lived trees may be obtained. In the case under investigation it is pre-

sumable that „Bigarreau Moreau" scions used were collected from a single tree which showed the symptoms of the disease.

The symptoms described may be easily confused with those often peculiar to virus infections.

Zusammenfassung

Die Verfasser beschreiben die charakteristischen Erscheinungen einer unregelmäßigen und mehr oder weniger breiten Panaschierung der Blattspreite auf Kirschbäumen der Sorte „Bigarreau Moreau" im Bezirk Parma. Diese Symptome beziehen sich nur auf das Laub der Sorte „Bigarreau Moreau"; die Individuen der anderen Sorten sind ohne diese Erscheinung. Man hat durch Okulation die Krankheit auf Zwetschen und auf Keimlinge von Kirschbäumen zu übertragen versucht, jedoch immer mit negativen Resultaten, daher kann es sich um keine Viruskrankheit handeln. Bei Veredelung bemerkt man wieder das Auftreten derselben Symptome an Blättern auf Sprossen, die sich aus okulierten Knospen entwickelt haben, niemals aber auf den Blättern der Unterlagen. Da die Symptome analog den in der Literatur beschriebenen und von den Verfassern öfter auf Kirschbäumen in verschiedenen Ländern beobachteten sind, kann die Krankheit als „nicht infektiöse Panaschierung" bezeichnet werden („non-transmissible variegation", „white crinkle", „panachure", „cherry marbling"); die Ursache ist in einer Knospenmutation zu suchen.

Trotzdem die Krankheit keinen infektiösen Ursprung hat, muß man doch die Obstzüchter aufmerksam machen, daß sie die Sorte, welche jene Symptome zeigt, nicht zur vegetativen Vermehrung weiterbenutzen. Man würde nämlich sonst weniger widerstandsfähige, weniger ertragreiche Pflanzen von kürzerer Lebensdauer hochzüchten. In unserem Fall ist es wahrscheinlich, daß alle von „Bigarreau Moreau" verwendeten Knospen von ein und derselben Pflanze kommen, die bereits die Krankheitserscheinungen aufwies.

Die beschriebenen Symptome können leicht verwechselt werden mit jenen, die häufig bei Virusinfektionen zu beobachten sind.

Letteratura citata

Blumer, S., 1954—1955: Viruskrankheiten an Obstbäumen. Schweiz. Z. Obst- und Weinbau **63**, 516—519, 525—529; **64**, 2—11.

Bovey, R., 1954: La panachure du Cérisier. Rev. Rom. Agric. **10**, 7, p. 60.

F. A. O., 1954: Outbreaks and new records. Pl. Prot. Bull. **2**, 4, 60—62.

Goidanich, G., 1956: Le malattie da virus delle piante da frutto. Progresso Agricolo, n. 6, 529—544.

Posnette, A. F., 1954: Virus diseases of Cherry trees in England. I. Survey of diseases present. The J. Hort. Sci. **29**, 1, 44—58.

Scaramuzzi, G., 1956: Polimorfismo sintomatologico del complesso virosico del Mandorlo conosciuto come „mosaico", in Puglia. Annali Sperim. Agraria, N. S. **10**, 5, 1707—1743; **10**, 6, 1789—1808.

— —, 1957: Secondo contributo allo studio del „mosaico" del Mandorlo, in Puglia. Ulteriori ricerche sperimentali sulla malattia ed esperienze preliminari per la individuazione di „ceppi" virosici responsabili dei sintomi di essa. Atti. Ist. Bot. Lab. Critt., Univ. Pavia, Serie V, **14**, 20 pp. (estratto) (in corso da pubblicazione).

Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. H. Braun

Untersuchungen über den Einfluß von Temperatur und Licht auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für das Kartoffel-Y-Virus[1])

Von

F. Nienhaus

Mit 8 Abbildungen

A. Einleitung

Die Disposition der Pflanze, worunter mit Gäumann der im Rahmen des genotypischen Schwankungsbereiches phänotypische reversible Empfänglichkeitszustand verstanden werden soll, kann durch Umweltbedingungen weitgehend zugunsten eines Erregers verschoben werden, so daß die Ursache der Erkrankung in manchen Fällen weniger beim Erreger selbst als in der Störung des inneren Gleichgewichtes der Pflanze zu suchen ist. Der durch den Standort, d. h. die Summe der klimatischen, edaphischen und biotischen Faktoren (Braun 1952), weitgehend bedingte jeweilige Grad der Disposition (Prädisposition) der Pflanze muß sich in besonderem Maße auf die Erkrankung durch pflanzenpathogene Viren auswirken.

Erst neuerdings hat man sich eingehender mit der Frage befaßt, inwieweit die Empfänglichkeit der Pflanzen für Virusinfektionen von Umwelteinflüssen verändert wird. Nach Beobachtungen von Pound (1952) sind bestimmte Sorten von *Brassica oleracea* bei einer Temperatur von 24⁰ C gegen Cruciferen-Viren resistent, lassen sich aber bei 28 ⁰ C infizieren und entwickeln heftige Symptome. In einigen Spinatsorten bricht die Resistenz gegen Gurkenvirus 1 bei 28 ⁰ C zusammen (Pound und Cheo 1952), bei einer gegen Tabakmosaikvirus resistenten Tabaksorte schon bei 22 ⁰ C (Ban-

1) Die Untersuchungen wurden mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

croft und Pound 1954). Kassanis (1952) untersuchte die Wirkung hoher Temperatur auf die Empfänglichkeit verschiedener Wirtspflanzen für Tabakmosaik-, Tabaknekrose-, Tomaten Bushy stunt-, Gurkenmosaik- und Bronzefleckenvirus. Eine kurzfristige Temperatureinwirkung von 36 °C (6—96 Stunden) vor der Inokulation erhöhte in allen Fällen die Empfänglichkeit der Pflanzen beträchtlich. In einer kurzen Mitteilung (Nienhaus 1956) habe ich dargelegt, daß kurzfristige tiefe (4 °, 10 °C) und hohe Temperaturen (36 °C) im Vergleich zu 21 °C die Empfänglichkeit von *Physalis floridana* für Kartoffel-Y-Virus verringern, und daß eine Hemmwirkung im Saftextrakt entsprechend behandelter nicht infektiöser Pflanzen (Tabak, *Physalis* und Kartoffel) festgestellt wurde.

Auch das Licht beeinflußt die Empfänglichkeit der Pflanzen für Viren erheblich. So lassen sich Tabak und Bohnen nach Bawden und Pirie (1945) ohne Abrasiv im Winter mit Tabaknekrose-Virus leicht infizieren, nicht aber zu anderen Jahreszeiten; und die Infektion mit Yellow dwarf-Virus bleibt aus, wenn die Pflanzen vor der Beimpfung mehr als 7 Stunden dem Sonnenlicht ausgesetzt werden (Hougas 1951). Durch Beschattung oder kurze Dunkelperioden vor der Inokulation wird die Empfänglichkeit vieler Pflanzen für verschiedene Viren nach Untersuchungen von Bawden und Roberts (1947, 1948) beachtlich erhöht. Matthews (1953 a, b) beobachtete in Neuseeland eine Änderung der Empfänglichkeit von Bohnenpflanzen für Tabaknekrosevirus mit der Tageszeit, und zwar war die Empfänglichkeit besonders groß bei hohem Assimilatgehalt; selbst eine 15—45 min lange Dunkelperiode unmittelbar vor der Inokulation verminderte die Zahl der sich entwickelnden Läsionen, dagegen förderte eine 1 min lange Belichtung die Empfänglichkeit dunkel gehaltener Pflanzen. Diese, den englischen Untersuchungen widersprechenden Ergebnisse mögen darauf beruhen, daß die englischen Versuche im Sommer, die neuseeländischen aber im Herbst und Winter durchgeführt wurden; denn Hitchborn (1954) stellte bei Tabaknekrose- und Tomatenmosaik-Virus auf Bohnen eine Läsionen vermindernde Wirkung der Dunkelperiode im Winter, einen fördernden Einfluß dagegen im Sommer fest.

Auch in der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung von Temperatur und Licht auf die Empfänglichkeit der Pflanze untersucht und den Versuchen folgende Fragen zugrunde gelegt: 1. Inwieweit wird die Empfänglichkeit der Pflanzen für Kartoffel-Y-Virus von den Umweltfaktoren Temperatur und Licht bestimmt? 2. Ist unter verschiedenen Umweltbedingungen eine im Saftextrakt evtl. nachzuweisende Hemmwirkung mit der jeweiligen Empfänglichkeit der Pflanzen in Beziehung zu setzen? Die Klärung der zweiten Frage ist besonders aktuell, weil in einigen Veröffentlichungen der letzten Jahre über den Einfluß ökologischer Faktoren auf das Virus in der Pflanze die Vermutung ausgesprochen wurde, daß beobachtete Unterschiede von Virusaktivität und -konzentration sich evtl. auf Hemmstoffe zurückführen lassen. Eine Prüfung auf Hemmstoffe wurde bisher m. W. nicht vorgenommen (vergl. Weathers und Pound 1954, ferner Pound und K. Helms 1955).

B. Experimenteller Teil

I. Material und Methoden

Als Einzelherd-Testpflanze diente *Physalis floridana* Rydb., die als Versuchspflanze für das Kartoffel-Y-Virus von A. F. Ross (1948, 1953) vorgeschlagen wurde. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte im insektenfreien Gewächshaus bei 20 bis 24 ° C in torfhaltiger Komposterde in Töpfen mit 12 cm Durchmesser und 500 ccm Füllvolumen. Wöchentlich wurden sie mit einem stickstoffreichen Volldünger versorgt. Einheitliche Blätter bildeten sich aus, wenn alle Seitensprosse und die jungen Blätter vom 14. entwickelten Blatt ab laufend entfernt wurden. Im Winter standen die Pflanzen bei Zusatzbeleuchtung (Osram-Leuchtstofflampen HNG 202, 40 Watt, „Bellalux", zusammen mit Osram-Siccatherm-lampen, 250 Watt). Im Alter von zwei bis drei Monaten, zur Zeit der Blüte, wurden untereinander möglichst gleiche *Physalis*-Pflanzen für Versuche herangezogen. Wenn die Blätter einschließlich 13. Blatt entwickelt sind, hat *Physalis* (wegen der gabelähnlichen Verzweigung oberhalb des zehnten Blattes) insgesamt 24 ausgebildete Blätter, wovon das zehnte bis zwölfte Blatt inokuliert, alle übrigen entfernt wurden (Abb. 2 A). Pflanzen in diesem Alter sollen Stadium A genannt werden gegenüber solchen Pflanzen, die in einem jüngeren Stadium für einige Versuche verwendet wurden. Diese Pflanzen (Stadium B) besitzen insgesamt zwölf ausgebildete Blätter (Abb. 2 B).



Abb. 1. Läsionenausbildung auf *Physalis floridana* Rydb. 12 bis 14 Tage nach der Infektion von Y-Virus deutscher Herkunft bei A = 16 ° und B = 18 ° C

Die Untersuchungen wurden teils mit zwei verschiedenen Herkünften des Kartoffel-Y-Virus aus dem Rheinland, teils mit einer Herkunft aus der Rothamsted Experimental Station, Harpenden, Herts., England[1]), durchgeführt. Während die Viren aus England und

[1]) Für die frdl. Überlassung der englischen Herkunft und für einen serologischen Test möchte ich Mr. F. C. Bawden, F. R. S., herzlich danken.

Deutschland serologisch gleich reagieren, unterschied sich die erstere von den deutschen Herkünften durch kräftigere Symptome auf *Nicotiana tabacum*, Samsun, Bashi Baghli, gestielt, und durch lokale Nekrosen auf inokulierten Kartoffelblättern der Sorte Erdgold. Gut auszählbare Läsionen entwickelten sich auf *Physalis floridana* nach Einreiben des Virus englischer Herkunft, wenn die Pflanzen nach der Inokulation 12 bis 14 Tage unter konstanten Bedingungen (Klimakammern) bei 16 bis 22 ⁰ C standen, bei 20 bis 22 ⁰ C war ihre Zahl im Vergleich zu 18 ⁰ C jedoch verringert. Bei Infektionen mit den deutschen Y-Viren war unter konstanten Bedingungen die Temperaturgrenze sehr scharf: nur bei 16 bis 17 ⁰ C traten Lokalläsionen auf, bei 18 bis 19 ⁰ C entwickelten sich viele kleine Nekrosen, die quantitativ nicht auswertbar waren (Abb. 1).

Als Inokulum dienten entweder roher Preßsaft von Tabakpflanzen unter Gewächshausbedingungen oder durch Ultrazentrifugierung mit einer luftgetriebenen Zentrifuge (Modell 194, Phywe AG, Göttingen) bei 25 000 U/min. gereinigte Virussuspensionen aus *Nicotiana tabacum* oder *N. glutinosa*, die zwei bis drei Wochen vorher infiziert worden waren. Der virushaltige Pflanzenextrakt wurde unter Verwendung von Karborund (Feinheitsgrad 400 bis 500) mit dem Finger in die Blätter eingerieben und diese unmittelbar danach mit Wasser abgespült. Bis zur Ausbildung der Läsionen (10 bis 14 Tage) standen die inokulierten Pflanzen je nach Virusherkunft bei konstanter Temperatur von 16 ⁰ bzw. 18 ⁰ C, einer relativen Luftfeuchtigkeit von 80 % und täglich 16stündiger künstlicher Beleuchtung.

Alle Temperaturversuche wurden in vollautomatischen Klimakammern (Fa. Alfred Teves, Frankfurt/Main) durchgeführt. Die Kammern waren 1,10 m breit, 1,60 m tief und 1,90 m hoch. Ein Zentrifugalventilator sorgte ständig für Luftumwälzung. Die Luft wurde durch einen Windkanal vorgewärmt und befeuchtet von außen zugeführt. Zur Beleuchtung der Pflanzen dienten Osram-Leuchtstofflampen HNG, HNI und HNT 202, 40 Watt, im Verhältnis 4 : 1 : 1. Die Gesamtenergie bei voller Beleuchtung im Abstand von 45 cm (Pflanzenhöhe) betrug das 9,9- bis 10,4fache von einer HNG-Röhre, Abstand = 90 cm (Lichtmeßgerät Larché-Schulze).

In der statistischen Auswertung der Versuche, in denen die Mittelwerte für Blatt und Pflanze angegeben sind, wurde nach Transformation der Läsionenzahl in die Gleichung $y = log_{10} (x + c)$, wobei x die Läsionenzahl und c eine Konstante von 20 bis 40 ist (KLECZKOWSKI 1949), die Homogenität der Streuung geprüft und die Signifikanz der Differenzen im t-Test ermittelt. Saftextrakte aus unterschiedlich behandelten Pflanzen konnten nach der Halbblattmethode verglichen werden, indem jeweils zwei verschiedene Preßsäfte auf den gegenüberliegenden Blatthälften eingerieben wurden. Die Läsionenzahlen aus 15 bis 36 Wiederholungen sind statistisch nach dem Differenzverfahren (Vergleich von Mittelwerten bei paarweiser Zuordnung der Einzelwerte, ERNA WEBER 1956, S. 188) bearbeitet worden. Differenzen mit der Überschreitungswahrscheinlichkeit von

P % > 5 gelten als nicht gesichert (0),
P % < 5 gelten als schwach gesichert (*),
P % < 1 gelten als gesichert (**),
P % < 0,1 gelten als gut gesichert (***).

Als Zeichen dienten:

$\bar{x}$	arithmetisches Mittel,
$\bar{x}_{\log (x + c)}$	arithmetisches Mittel der transformierten Werte,
s	Streuung,
N	Anzahl der Einzelwerte (= $\bar{x}$ aus fünf Werten),
P	Überschreitungswahrscheinlichkeit.

Bei Anwendung des Differenzenverfahrens:

$\bar{x}$	arithmetisches Mittel,
d	arithmetisches Mittel der Differenz,
s_d	Streuung der Differenz,
N	Anzahl der Einzelpaare,

$$t = d\sqrt{\frac{N}{s^2_D}}\,.$$

In einigen Versuchen wurde der Gehalt der Blätter an Zucker (Fruktose, Glukose und Saccharose) papierchromatographisch bestimmt. Als Lösungsmittel diente Butanol-Eisessig-Wasser. Fruktose wurde mit Harnstoff-HCl (DEDONDER 1950), Glukose und Saccharose mit Anilinphthalat entwickelt. Da nach FISHER, PARSON und MORRISON (1948) die Fleckengröße proportional dem Logarithmus des Gehaltes an Substanz ist (Genauigkeit 10 %), wurde diese Methode für einen quantitativen Vergleich zusammen mit der Bonitierung der Farbintensität der Flecke benutzt. Die Fleckengröße konnte planimetrisch bestimmt werden.

II. Einfluß tiefer und hoher Temperatur vor und nach der Inokulation auf Pflanzen bei Licht und Dunkelheit

A. F. Ross (1953) berichtet in seiner Arbeit über *Physalis floridana* als Einzelherd-Testpflanze für Kartoffel-Y-Virus, daß die Temperatur vor der Inokulation auf die Zahl der Läsionen keinen oder nur geringen Einfluß hat. Durch Anzucht der Pflanzen bei 80 ⁰ F (etwa 27 ⁰ C) war die Läsionenzahl gegenüber 65 ⁰ F (etwa 19 ⁰ C) nur um 20 % erhöht, außerdem waren die Läsionen bei 80 ⁰ F klein, undeutlich und schlecht auszählbar. Weitere Ergebnisse über Temperatureinflüsse auf die Empfänglichkeit von *Physalis floridana* für Y-Virus mit Ausnahme einer eigenen kurzen Mitteilung (NIENHAUS 1956) liegen m. W. nicht vor.

Es galt daher zu prüfen, inwieweit eine k u r z f r i s t i g e Einwirkung tiefer und hoher Temperatur v o r der Inokulation die Empfänglichkeit von *Ph. floridana* verändert.

Jeweils 6 bis 10 Pflanzen des Stadiums A (Abb. 2) standen 48 bis 96 Stunden in Klimakammern bei Temperaturen von 4, 10, 16, 21, 30 und 36 ⁰ C, einer relativen Luftfeuchtigkeit von 80 % und künstlicher Beleuchtung (siehe oben). An jeder Pflanze wurden 5 Blätter (10. bis 12. Blatt) inokuliert. Da schon seit langem bekannt ist, daß die Empfänglichkeit der Blätter sich mit dem Alter verändert, wurden in allen Versuchen Blätter gleicher Entwicklungsstadien und Insertationshöhe, also Blätter, die im gleichen Lebensalter der Pflanze angelegt sind, beimpft. Nach der Inokulation standen die Pflanzen einheitlich bis zur Läsionenausbildung bei 16 bzw. 18 ⁰ C.

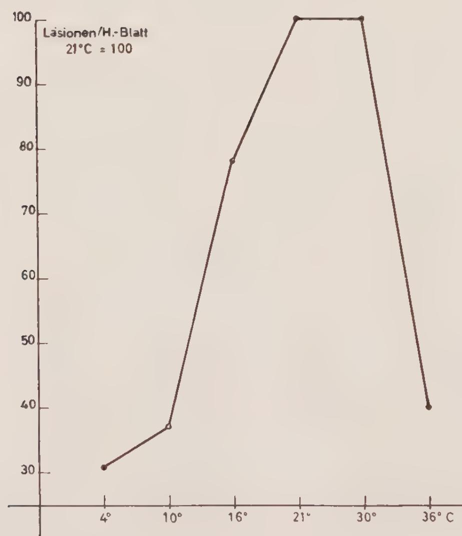
Die Ergebnisse aus mehreren Wiederholungen zu verschiedenen Jahreszeiten sind in Abbildung 3 graphisch dargestellt. Die Läsionenzahlen sind Mittelwerte/Halbblatt, bezogen auf 21 ⁰ C = 100. In diesen Versuchen wurde, um eine möglichst kurze Inokulationszeit zu erzielen, nur eine Blatthälfte beimpft.

Die Zahl der Läsionen war bei 21 bis 30 ⁰ C im Vergleich zu tiefer und hoher Vortemperatur besonders groß. Pflanzen bei 10 ⁰ und 36 ⁰ C hatten

weniger als die Hälfte der Läsionen, bei 4 ⁰ C sank die Zahl nicht mehr wesentlich. Die Unterschiede zwischen 16 und 21 ⁰ C sind nicht signifikant, alle anderen im Vergleich zu 21 ⁰ und 30 ⁰ C bei $P = 0{,}1\,\%$ statistisch gut gesichert.



Abb. 2. Schema von *Physalis floridana* im Altersstadium A (24 Blätter ausgebildet) und B (12 Blätter ausgebildet). 1. bis 9. Blatt ist nicht eingezeichnet



Temp. C	$\bar{x}$	$\bar{x}_{\log(x+20)}$	s	N	Relativwerte
21°	25	1,266[1)]	0,362	19[2)]	100
4°	8	0,817 ***	0,273	19	31
21°	50	1,835	0,094	18	100
10°	19	1,576 ***	0,089	18	37
21°	18	1,557	0,134	15	100
16°	14	1,520 °	0,095	15	78
21°	47	1,797	0,189	13	100
30°	47	1,791 °	0,182	13	100
21°	60	1,866	0,178	18	100
36°	24	1,614 ***	0,145	18	40

1) = $\bar{x}_{\log x}$

2) = Zwischenmittel aus je 5 Einzelwerten

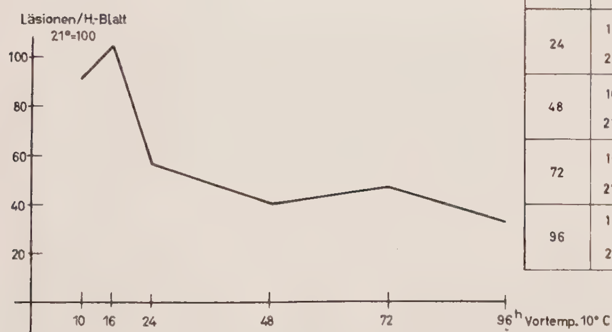
Abb. 3. Veränderung der Empfänglichkeit von *Physalis floridana* für Y-Virus durch unterschiedliche Temperatureinwirkung (4 bis 36 ⁰ C während 48 bis 96 Stunden) vor der Inokulation, gemessen an der Läsionenzahl, bezogen auf 21 ⁰ C = 100 Läs./Halbblatt

Es erhebt sich die Frage, ob auch Vortemperaturen unter 48 Stunden die Empfänglichkeit der Pflanzen verändern. Bei 36 ⁰ C war schon nach 16 Stunden eine Herabsetzung der Empfänglichkeit zu beobachten, eine zehnstündige Einwirkung von 36 ⁰ C dagegen wirkte sich im Vergleich zu 21 ⁰-Pflanzen fördernd aus, während 10 ⁰ C sowohl bei einer Einwirkungsdauer von 16 wie 10 Stunden praktisch keinen Einfluß hatte (Tab. 1), aber nach 24stündiger Einwirkung die Empfänglichkeit der Pflanzen um 43 % verringerte. Nach 48 Stunden Vortemperatur war der Endwert mehr oder weniger erreicht, denn wesentliche Unterschiede zwischen zwei- bis viertägiger Dauer traten nicht auf (Abb. 4).

Tabelle 1

Veränderung der Empfänglichkeit durch Temperatureinwirkung weniger als 24 Stunden vor der Inokulation

Dauer in Stunden	Vortemperatur in °C	$\bar{x}$	$\bar{x}_{\log (x+20)}$	s	N	Relativwerte
	21	52	1,838	0,131	20	**100**
10h	**10**	51	1,838°	0,332	20	**98**
	36	80	1,991**	0,135	20	**154**
	21	77	1,963	0,040	25	**100**
16h	**10**	78	1,945°	0,024	25	**99**
	36	52	1,816**	0,190	25	**69**



Stdn.	°C	$\bar{x}$	$\bar{x}_{\log(x+20)}$	s	N	Relativwerte
10	10	49	1,828°	0,111	12 1)	91
	21	54	1,864	0,084	12	100
16	10	82	1,980°	0,162	23	104
	21	79	1,967	0,159	23	100
24	10	39	1,750***	0,131	25	57
	21	69	1,924	0,160	25	100
48	10	27	1,634***	0,173	17	40
	21	67	1,918	0,175	17	100
72	10	34	1,713***	0,032	21	47
	21	73	1,919	0,045	21	100
96	10	15	1,527***	0,104	24	33
	21	45	1,795	0,128	24	100

1) = Zwischenmittel aus 5 Einzelwerten

Abb. 4. Zunehmende Verringerung der Empfänglichkeit durch verschieden lange Perioden von 10 ⁰ C vor der Inokulation im Vergleich zu 21 ⁰ C

Die Empfänglichkeit von *Physalis floridana,* gemessen an der Zahl der Läsionen, wurde also durch tiefe wie hohe Temperatur (Dauer 24 bis 96 Stunden) unabhängig von der Jahreszeit wesentlich v e r r i n g e r t.

Die Verminderung der relativen Luftfeuchtigkeit von 80 % auf 50 % hatte keinen Einfluß auf das Ergebnis.

In weiteren Versuchen wurde die Empfänglichkeit von *Ph. floridana* zweier Altersstadien (Abb. 2) in Abhängigkeit von tiefer und hoher Temperatur untersucht. Es wurden stets die jüngsten ausgebildeten Blätter inokuliert (Altersstadium A = 13. und 12. Blatt, B = 11. und 10. Blatt), um soweit wie möglich das gleiche physiologische Alter der Blätter zu gewährleisten. Aus Tabelle 2 ist zu ersehen, daß junge Pflanzen ihre Empfänglichkeit durch Temperatureinwirkung vor der Inokulation nur in geringem Maße verändern (13 bzw. 18 %). Im übrigen lag die Läsionenzahl/Halbblatt wesentlich höher als bei denen im A-Stadium.

Tabelle 2

Veränderung der Empfänglichkeit von Pflanzen unterschiedlichen Alters (vgl. Abb. 2) durch tiefe und hohe Temperatur

Altersstadium	Temp. °C	$\bar{x}$	$\bar{x}_{\log(x+40)}$	s	N	Relativwerte
A (24 Blätter ausgebildet)	**21**	70[1]	2,020	0,145	10	**100**
	10	34	1,859**	0,095	10	**49**
	21	65	1,994	0,155	12	**100**
	36	28	1,820**	0,110	12	**43**
B (12 Blätter ausgebildet)	**21**	148	2,240	0,168	10	**100**
	10	129	2,217°	0,100	10	**87**
	21	147	2,248	0,152	10	**100**
	36	120	2,183°	0,138	10	**82**

[1]) Läs./Halbblatt, Mittel aus 5 × 10 = 50 Einzelwerten.

Die folgenden Versuche gingen von der Frage nach den evtl. Ursachen der Verringerung der Läsionenzahl durch tiefe und hohe Vortemperaturen aus. Es könnten beispielsweise bei allen Vortemperaturen an gleich vielen Stellen Infektionen zum Haften kommen, die Ausbildung der Läsionen aber unterbleiben, indem bei tiefer und hoher Temperatur vor der Inokulation gebildete Substanzen die Virusvermehrung allmählich zum Stillstand bringen.

Neben sichtbaren Läsionen, die durch Absterben vieler Zellen zustandekommen, tritt eine Reihe von Läsionen durch Nekrotisierung weniger Zellen auf, die sich nur mikroskopisch erfassen lassen. Auf eine Blattfläche von 12 mm Durchmesser bezogen, erbrachte eine Auszählung dieser Mikroläsionen wie bei den Makroläsionen das gleiche Verhältnis zwischen der Zahl bei 21 ° C und derjenigen bei tiefer wie hoher Vortemperatur. Die vorangestellte Überlegung kann also nicht bestätigt werden.

Als weitere Ursache für die verminderte Empfänglichkeit könnte man Assimilatstauung annehmen, da bei tiefer Temperatur die assimilatorisch er-

zeugten Kohlenhydratmengen kaum verbraucht werden. Die geringe Anfälligkeit bei 36 ⁰ C wäre allerdings damit nicht zu erklären. Im folgenden Versuch wurde der papierchromatographisch ermittelte Gehalt an Glukose, Fruktose und Saccharose jeder einzelnen Pflanze nach vier Tagen Vortemperatur von 10 ⁰ und 21 ⁰ C mit der Zahl der Läsionen derselben Pflanze verglichen. Mit Hilfe eines Korkbohrers wurden jeweils aus der linken Hälfte der zu untersuchenden Blätter Proben entnommen, während die rechte Blatthälfte zur Prüfung der Empfänglichkeit mit Virussaft inokuliert werden konnte.

Hoher Zuckergehalt bei 10 ⁰ C fällt mit niedriger, geringer bei 21 ⁰ C mit hoher Läsionenzahl zusammen (Abb. 5). Differenzen im Zuckergehalt wie in der Läsionenzahl zwischen den jeweils zehn Pflanzen bei 21 ⁰ und denjenigen bei 10 ⁰ C sind statistisch gesichert, nicht aber Differenzen im Zuckergehalt zwischen den Werten der einzelnen Pflanzen eines Temperaturbereiches, jedoch wiesen Pflanzen von hoher Anfälligkeit nie den niedrigsten Zuckergehalt auf.

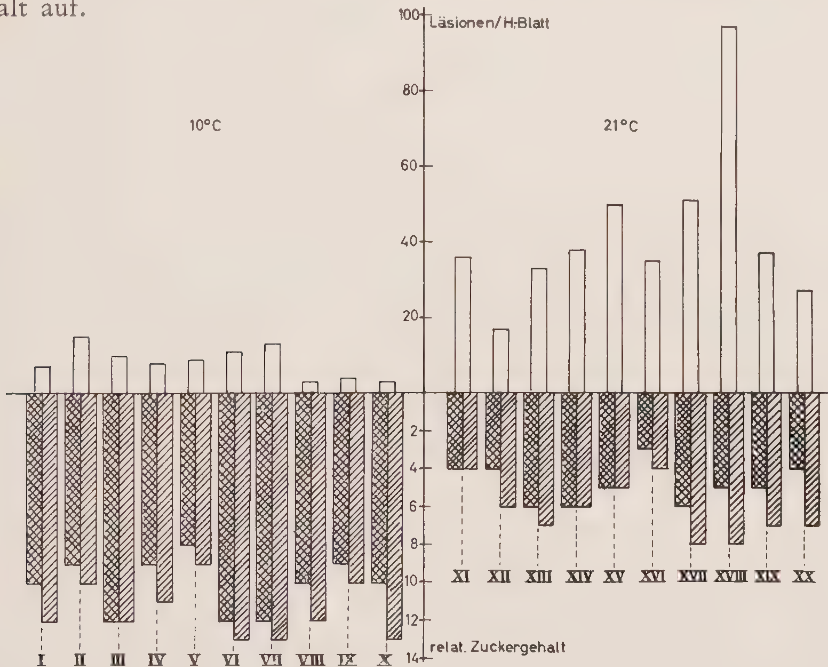


Abb. 5. Relativer Zuckergehalt und Läsionenzahl von je zehn einzelnen gleichaltrigen Pflanzen (Nr. I—X) bei 10 ⁰ und 21 ⁰ C (XI—XX) Vortemperatur. Weiße Säulen: Läsionen/Halbblatt, einfach schraffiert: Glukose, doppelt schraffiert: Fruktose

Wurde der Assimilatgehalt, gemessen an Fruktose, Glukose und Saccharose, ferner am Stärkegehalt bei 10 und 21 ⁰ C durch zusätzliche Beleuchtung mit Osram-Siccathermlampen, 250 Watt, vor der Inokulation erhöht, so war die Läsionenzahl bei höherer Lichtintensität im Vergleich zur Zahl bei der üblichen Leuchtstofflampen-Beleuchtung sowohl bei 10 ⁰ wie bei 21 ⁰ C verringert (Tab. 3).

Tabelle 3

Läsionenzahl bei niedriger und erhöhter Lichtintensität bei unterschiedlichen Temperaturen vor der Inokulation

Pflanze Nr.	a 21 °C mit Sicc.[1])	b 21 °C ohne Sicc.	c 10 °C mit Sicc.	d 10 °C ohne Sicc.
1	36,3[2])	38,0	3,0	15,0
2	17,3	65,0	4,0	11,0
3	33,3	71,3	3,3	24,7
4	50,3	64,0	13,3	14,7
5	35,0	37,0	11,1	15,7
6	51,3	37,7	9,3	19,5
7	36,7	53,3	8,3	18,4
8	27,3	42,7	10,3	11,0
9	37,7	—	15,0	6,3
10	—	—	7,0	—
$\bar{x}$	**36,1****	**53,1**	**8,5****	**15,1**
N	9	8	10	9
s	10,4	14,1	4,2	5,4

[1]) Siccathermbeleuchtung. [2]) Läs./Halbblatt, x aus fünf Einzelwerten.

Bei Zunahme des Assimilatgehaltes der Pflanzen kann insgesamt also eine Verminderung der Empfänglichkeit festgestellt werden. Durch folgende Versuche wird aber die Vermutung bestätigt, daß neben Assimilatgehalt noch andere Ursachen für die Veränderung der Empfänglichkeit der Pflanzen bei unterschiedlichen Temperaturen von Bedeutung sind; denn die hemmende Wirkung tiefer und hoher Temperatur war auch dann festzustellen, wenn durch eine zweitägige Dunkelperiode stärkefrei gemachte Pflanzen 48 Stunden lang unterschiedlichen Temperaturen bei Dunkelheit vor der Inokulation ausgesetzt worden waren (Tab. 4 A).

Tabelle 4

Wirkung der Vortemperatur auf die Empfänglichkeit von *Physalis floridana* bei Dunkelheit (48 Std.)
A = vgl. Abb. 2 A; B = vgl. Abb. 2 B

Altersstadium	Temperatur und Licht = H o. Dunkelh. = D	$\bar{x}$	$\bar{x}_{\log(x+40)}$	$s_{\log(x+40)}$	N	Relativwerte
A	**21** °C H	74[1])	2,032	0,146	17	**100**
	10 °C D	25	1,799***	0,119	16	**34**
	21 °C H	132	2,224	0,105	12	**100**
	36 °C D	63	1,967**	0,215	11	**48**
B	**21** °C H	121	2,173	0,161	24	**100**
	10 °C D	142	2,239°	0,145	24	**117**

[1]) Läs./Halbblatt, Mittel aus 17 × 5 = 85 Einzelwerten.

Stärkefreie junge Pflanzen (Stadium B) veränderten bei Dunkelheit ihre Empfänglichkeit nicht wesentlich (Tab. 4 B).

Die Ausbildung von Läsionen auf *Ph. floridana* nach der Inokulation des Y-Virus ist in besonderem Maße temperaturabhängig. Es ergibt sich die Frage, inwieweit kurze tiefe und hohe Temperaturperioden nach der Infektion die Zahl der Läsionen bestimmen können.

Physalis-Pflanzen, die bei 20 bis 22 °C herangezogen worden waren, wurden mit dem Y-Virus deutscher Herkunft inokuliert und dann wie üblich bei 16 °C weiterkultiviert. Die Hälfte wurde 4 Stunden nach der Inokulation 40 Stunden einer Temperatur von 10 °C bzw. 36 °C ausgesetzt. Da angenommen wird, daß die Viruspartikeln eine gewisse Zeit für die Ansiedlung in den Zellen benötigen, ohne sich zu vermehren, wurden die Pflanzen erst 4 Stunden nach der Inokulation tiefer bzw. hoher Temperatur ausgesetzt. Nach dieser Temperatureinwirkung blieben die Pflanzen bis zur Läsionenausbildung dann auch bei 16 °C.

Wie aus Tabelle 5 zu ersehen ist, trat durch eine 40stündige Einwirkung von 10 °C nach der Inokulation eine Verminderung der Läsionenzahl nicht auf, durch eine entsprechend lange Periode von 36 °C dagegen war neben einer verzögerten Läsionenausbildung auch eine Abnahme ihrer Zahl um 42 % zu beobachten.

Tabelle 5

Zahl der Läsionen bei 40stündiger Einwirkung von 10° und 36° C nach der Inokulation im Vergleich zur Kontrolle bei ständig 16° C

	Temperatur	$\bar{x}$	$\bar{x}_{\log (x + 20)}$	$s_{\log (x + 20)}$	N	Relativwerte
Versuch I	**16°C**	51[1])	1,838	0,123	8	**100**
	40h **10°C**	53	1,856°	0,095	8	**104**
Versuch II	**16°C**	97	2,038	0,119	8	**100**
	40h **36°C**	56	1,869*	0,123	7	**58**

[1]) Läs./Halbblatt, Mittel aus 8 × 5 = 40 Einzelwerten.

Bei systemisch erkrankenden Pflanzen läßt sich die Empfänglichkeit nur an der Zahl nach der Inokulation erkrankter und nicht erkrankter Pflanzen direkt beurteilen. Da die Anfälligkeit von Tabakpflanzen für Y-Virus sehr groß ist, wurde hier nach einer anderen Methode gesucht, um die Wirkung tiefer und hoher Temperatur auf die Empfänglichkeit zu erfassen.

In einem Vorversuch konnte festgestellt werden, daß in Pflanzen von *Nicotiana tabacum*, Samsun, Bashi Baghli, 3—5 Tage nach der Inokulation mit einem verdünnten Saftextrakt von Y-Virus (1 : 250) eine bedeutend geringere Viruskonzentration, gemessen nach der Einzelwertmethode auf *Ph. floridana*, vorliegt als nach Inokulation konzentrierter Viruspreßsäfte, weil vermutlich bei Verdünnungen die Zahl der Infektionspunkte, von denen die Vermehrung ausgeht, verringert ist. Wenn sich durch tiefe Vor-

temperatur im Vergleich zu Pflanzen bei 21 ° C nur wenig Viruspartikeln in der Wirtspflanze ansiedeln können, ist also in diesen Pflanzen in den ersten Tagen nach der Inokulation auch eine geringere Viruskonzentration zu erwarten. Wurden nun Pflanzen von *N. tabacum* 48 Stunden lang vor der Inokulation bei 4, 10 und 21 ° C gehalten, so war die Virusaktivität drei Tage nach der Beimpfung bei 4 °-Pflanzen um 75 % und bei 10 °-Pflanzen um 86 % gegenüber 21 °-Pflanzen vermindert. Hieraus wird abgeleitet, daß tiefe Temperatur die Empfänglichkeit auch bei Tabakpflanzen herabsetzt.

In den bisher beschriebenen und allen weiter unten angeführten Versuchen erfolgte die Inokulation des Virus mechanisch durch Einreiben des infektiösen Preßsaftes mit dem Finger.

Wurden durch unterschiedliche Temperaturen (10, 16, 21 und 26 ° C) vorbehandelte Keimlingspflanzen von *Ph. floridana* (erstes Blattstadium, je 80 Pflanzen/Temperatur) von Läusen (*Myzus persicae* Sulz., Aquisitionszeit 10 Minuten, Testsaugen 30 Minuten) mit Y-Virus infiziert, so traten nur geringe Unterschiede auf, die sich statistisch nicht sichern ließen.

III. Einfluß des Lichtes auf Pflanzen vor der Inokulation im Temperaturbereich um 20 °C

Wie oben gezeigt, ist gegenüber Kartoffel-Y-Virus bei hohen und tiefen Temperaturen eine Verminderung der Empfänglichkeit durch Licht niedriger Intensität kaum zu beobachten: auch bei Dunkelheit vermindert sich die Empfänglichkeit der Pflanzen sowohl bei tiefer wie hoher Temperatur.

Wurden aber im Temperaturbereich von 20 ° C Pflanzen von *Physalis floridana* einer 24stündigen oder längeren Dunkelperiode vor der Inokulation mit Y-Virus ausgesetzt, so e r h ö h t e sich die Empfänglichkeit der Pflanzen gegenüber den Kontrollen bei Licht. Noch bei einer 10stündigen Dunkelperiode war eine — allerdings geringe — Wirkung festzustellen.

Junge Pflanzen ließen sich wie bei den Temperaturversuchen in ihrer Disposition nur wenig beeinflussen.

Weiteren Untersuchungen wurde deshalb die Frage vorangestellt, ob die bei 20 ° C im Licht gebildeten Assimilate oder aber andere durch Licht induzierte Reaktionen die Empfänglichkeit der Pflanzen vermindern. Dabei machte ich mir die Erscheinung zunutze, daß Pflanzen bei Licht in CO_2-freier Atmosphäre ihre Assimilation weitgehend einstellen. *Physalis*-Pflanzen wurden bei Licht (Gewächshaus) 72 Stunden lang unter gasdichte Glasglocken gestellt und CO_2-freie Luft in ständigem Strom durchgeleitet. Zur Bindung des CO_2 waren vor jede Glasglocke 5 Waschflaschen mit Kalilauge und zur Kontrolle eine Flasche mit Barytwasser vorgeschaltet. Unmittelbar vor der Inokulation war Stärke in den Blättern im Gegensatz zu Kontrollpflanzen unter Glasglocken mit CO_2-haltiger Luft nach der Jodjodkali-Methode nicht nachweisbar. Die Läsionenzahl bei Pflanzen in CO_2-freier Atmosphäre war, wie aus Tabelle 6 zu ersehen, um 100 % gegenüber der Kontrolle erhöht.

Tabelle 6

Erhöhung der Empfänglichkeit von *Physalis floridana* bei CO_2-freier Atmosphäre im Temperaturbereich von 20° C

Luft	$\bar{x}$	$\bar{x}_{\log (x+20)}$	$s_{\log (x+20)}$	N	Relativwerte
mit CO_2	35[1])	1,714	0,149	23	**100**
ohne CO_2	71	1,932***	0,161	23	**203**

[1]) Läs./Halbblatt, Mittel aus 23 Einzelwerten.

Offenbar hindern die bei der Assimilation gebildeten Substanzen die Viren an der Ansiedlung oder ersten Vermehrung in den Wirtszellen. Zur Überprüfung dieser Vermutung interessierte es, ob die Wirkung der Dunkelperiode durch künstliche Zuckerzufuhr aufgehoben werden kann.

Abgeschnittene *Physalis*-Pflanzen wurden 24 Stunden lang vor der Inokulation im Dunkeln in 1/10 mol. Saccharose-Lösung gestellt, die Kontrollen in Wasser. Nach der Inokulation kamen alle Pflanzen in Nährlösung (Kopetz und Steineck 1950) bei 16° C und Licht bis zur Läsionenausbildung. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 zusammengefaßt.

Tabelle 7

Verminderung der Empfänglichkeit von *Physalis floridana* durch Zuckerzufuhr in Dunkelheit

Vorbehandlung in Dunkelheit	$\bar{x}$	$\bar{x}_{\log (x + 20)}$	$s_{\log (x + 20)}$	N	Relativwerte
Zuckerzugabe	62[1])	1,876***	0,182	20	**50**
Kontrolle in Wasser	123	2,121	0,185	20	**100**

[1]) Läs./Halbblatt, Mittel aus 20 Einzelwerten.

Die zugeführten Saccharosemengen können die durch Dunkelheit geförderte Läsionenentwicklung wieder aufheben, denn die vor der Inokulation in Zuckerlösung dunkel gehaltenen Pflanzen haben gegenüber Wasserkontrollen ihre Läsionenzahl um 50 % verringert.

Weitere Versuche ergaben sich aus der Frage, inwieweit sehr geringe Assimilatmengen, die in kurzen Lichtperioden gebildet werden, die Empfänglichkeit der Wirtszellen beeinflussen können, oder ob erst Anhäufungen photosynthetischer Produkte Bedeutung haben. So wurden bei 20—22° C etwa 80 Stunden lang dunkel gehaltene Pflanzen im Abstand von 24 Stunden dreimal 60 Minuten durch Tageslicht (hohe Intensität) belichtet. Die Länge der Dunkelperiode nach der letzten Belichtung bis zur Inokulation betrug 12 Stunden. Im Vergleich zu der ständig dunkel gehaltenen Kontrolle und zu den Kontrollpflanzen unter Langtagsverhältnissen war die Wirkung der Dunkelperiode durch diese kurze Lichteinwirkung zum größten Teil wieder aufgehoben (Tab. 8). In anderen Versuchen

konnte selbst bei einer dreimaligen Unterbrechung der Dunkelperiode durch 15 oder 5 Minuten Tageslicht eine deutliche Verminderung der Läsionenzahl erzielt werden.

Tabelle 8

Verminderung der Empfänglichkeit von *Physalis floridana* durch dreimal einstündige Belichtung in einer 80stündigen Dunkelperiode

Behandlung vor Inokulation	$\bar{x}$	$\bar{x}_{log}$	s_{log}	N	Relativwerte
Langtag	26[1]	1,316***	0,416	15	**22**
Dunkelheit	119	2,016	0,234	15	**100**
1^h Licht täglich	46	1,557***	0,349	14	**39**

[1]) Läs./Halbblatt, Mittel aus 5 × 15 = 75 Einzelwerten.

Nach diesen Versuchen ist der entscheidende Faktor für die Verringerung der Empfänglichkeit bei Licht nicht die Anhäufung von Assimilaten, vielmehr scheinen schon während einer kurzen Lichtperiode gebildete Stoffe die Virusinfektion zu hemmen. Offenbar beeinflussen die Assimilate nicht unmittelbar die Empfänglichkeit der Wirtszellen, denn es war gleichgültig, ob die Pflanzen nach einer Dunkelperiode im Licht oder im Dunkeln inokuliert wurden. Bei einer unmittelbaren Wirkung müßten sich die während der Inokulation gebildeten Assimilate hemmend auswirken, da die Pflanzen vor und während der Beimpfung etwa 15 Minuten belichtet worden waren.

Tabelle 9

Unterbrechung der 48stündigen Dunkelperiode durch einstündige Belichtung geringer Intensität zu verschiedener Zeit vor der Inokulation

Einstündige Belichtung x^h vor der Inokulation	$\bar{x}$	$\bar{x}_{log}$	s_{log}	N	Relativwerte
0	169[1])	2,222°	0,086	7	**89**
3	186	2,260°	0,094	7	**98**
6	134	2,123*	0,069	6	**71**
12	155	2,156°	0,121	7	**82**
48 (Kontrolle)	189	2,262	0,125	7	**100**

[1]) Läs./Halbblatt, Mittel aus 7 × 5 = 35 Einzelwerten.

Diese Vermutung läßt sich durch weitere Ergebnisse stützen: Pflanzen von *Physalis floridana*, die 48 Stunden lang in Klimakammern bei 21 ° C und 80 % relativer Luftfeuchtigkeit dunkel standen, wurden während dieser Zeit einer einstündigen Belichtung durch Leuchtstoffröhren ausgesetzt. Der Zeitpunkt der Belichtung wurde so gewählt, daß die Pflanzen bis zur Inokulation 12, 6, 3 oder 0 Stunden im Dunkeln verblieben. Während eine ein-

stündige Belichtung (niedrige Intensität) unmittelbar vor oder 3 Stunden vor der Inokulation die Anfälligkeit der Pflanzen kaum beeinflußte, war das Licht 6 Stunden vorher wirksam. Belichtung 12 Stunden vor der Inokulation verringerte die Empfänglichkeit weniger, da offenbar die darauffolgende Dunkelperiode die Lichtwirkung zum Teil wieder aufhob (Tab. 9). Die Verminderung der Empfänglichkeit betrug maximal nur 30 %, weil die Lichtintensität in den Klimakammern niedrig war.

In weiteren Versuchen wurde die Wirkung des Lichtes unterschiedlicher Spektralbereiche verglichen. Zur Verfügung standen Osram-Leuchtstofflampen, Type HN 202, 40 Watt. Das von den Lampen emittierte Fluoreszenzlicht ergibt ein kontinuierliches Spektrum, das von Quecksilberlinien überlagert wird. Die Energie-Verteilungskurven der hier zum Vergleich herangezogenen Lampen sind aus Abbildung 6 zu entnehmen. Die HNT-Leuchtstofflampen besitzen einen relativ hohen Blauanteil (Maximum 470 mμ), die HNI-Lampen dagegen einen bedeutenden Anteil im roten Bereich (Maximum 600 mμ).

Pflanzen von *Physalis floridana* wurden während der Unterbrechung der Dunkelperiode im Abstand von 12 Stunden jeweils eine Stunde entweder dem Licht von HNT- oder HNI-Lampen ausgesetzt. Beide Lampentypen ergaben in Pflanzenhöhe 3500 bis 4000 Lux. Diese Luxmessungen sagen jedoch nicht viel aus, weil das Luxmeter keine gleichmäßige Empfindlichkeit in den verschiedenen Spektralbereichen besitzt. Die Gesamtstrahlung, gemessen mit Meßgerät Larché-Schulze, ist bei der HNI-Lampe um 7 % niedriger als bei der Type HNT.

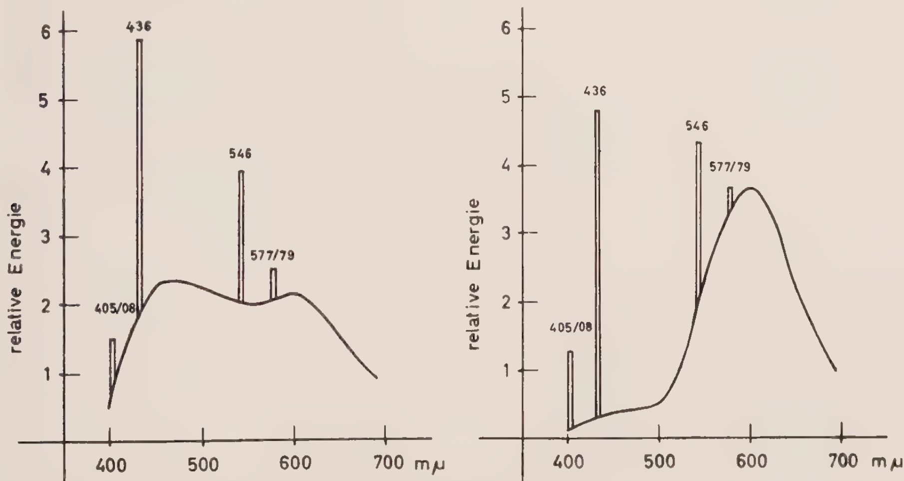


Abb. 6. Energie-Verteilungskurven für Osram-Leuchtstofflampen, Type HNT und HNI 202, 40 Watt. Säulen = Quecksilberlinien. (Nach Angaben der Firma Osram und nach Ruge, 1954)

Während die Belichtung mit HNI-Lampen keine oder nur geringe Wirkung auf die Empfänglichkeit der Pflanzen hatte, wurden die Läsionenzahlen unter HNT-Lampen deutlich vermindert (Tab. 10). Spektralbereiche < 500 mμ sind demnach offenbar wirkungsvoller als die > 550 mμ.

Tabelle 10

Unterbrechung der 48stündigen Dunkelperiode vor der Inokulation durch einstündige Belichtung im Abstand von zwölf Stunden mit Leuchtstofflampen unterschiedlicher Spektralbereiche

Vorbehandlung	$\bar{x}$	$\bar{x}_{log}$	s_{log}	N	Relativwerte
HNT	95[1])	1,927**	0,222	13	**64**
HNI	146	2,145°	0,140	13	**99**
Dunkelheit	148	2,152	0,129	12	**100**

[1]) Zwischenmittel aus je fünf Einzelwerten (13 = 65).

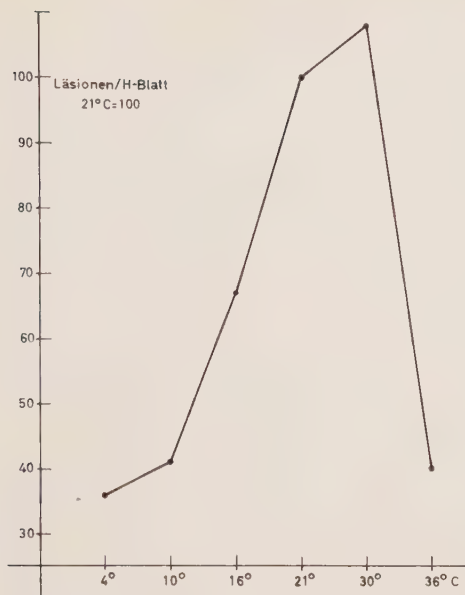
IV. Hemmstoffbildung in Pflanzen in Abhängigkeit von Temperatur und Licht

a) Hemmstoffbildung bei tiefer und hoher Temperatur bei Licht und Dunkelheit

POUND und KATIE HELMS (1955) untersuchten die Vermehrung von Kartoffel-X-Virus in *Nicotiana*-Arten und die Stärke der Symptomausbildung in Abhängigkeit von der Temperatur. Die Ergebnisse, die mit der Einzelherdmethode gewonnen wurden, verglichen sie mit den Werten einer optischen Dichtemessung des Virus-Nukleoproteids. Während im Frühjahr die höchste Konzentration des Virus-Nukleoproteids bei 20 ⁰ C mit der größten Virusaktivität, gemessen an der Zahl der Läsionen, übereinstimmte, beobachteten sie im Winter bei 16 ⁰ C die größte Dichte, dagegen die niedrigste Aktivität. Die Verfasser diskutieren drei Möglichkeiten: 1. Die Differenzen sind methodisch bedingt. 2. Das Verhältnis zwischen infektiösen und nicht infektiösen (oder keine Läsionen bildenden) Viren variiert unter den verschiedenen Umweltbedingungen. 3. Das Verhältnis zwischen infektiösen und nicht infektiösen Partikeln ist, unabhängig von der Temperatur, mehr oder weniger gleich, aber eine andere Substanz, ein Hemmstoff, der die Aktivität des Saftextraktes vermindert, wird bei niedriger Temperatur gebildet. Hemmstoffteste oder andere Versuche wurden jedoch nicht durchgeführt, so daß die Ursache der beobachteten Differenzen ungeklärt blieb.

Unabhängig von dieser Arbeit, die mir erst 1956 zur Verfügung stand, hatte sich aus meinen Untersuchungen die Frage ergeben, ob im Preßsaft der bei unterschiedlicher Temperatur hell und dunkel gehaltenen Pflanzen ein hemmendes Prinzip nachzuweisen ist.

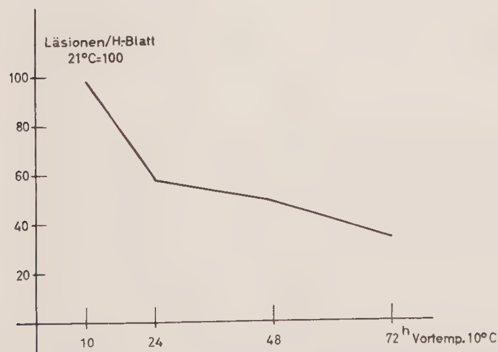
Nicht infizierte Tabakpflanzen (*Nicotiana tabacum*, Samsun, Bashi Baghli), Höhe 30—60 cm, wurden einige Tage bei L i c h t in Klimakammern unterschiedlichen Temperaturen ausgesetzt, die Blätter in der Reibschale zerkleinert, durch ein Tuch gepreßt und der ungereinigte Preßsaft solcher nicht infizierten Pflanzen mit einem infektiösen Tabaksaft von 21 ⁰-Pflanzen im Verhältnis 1 : 1 gemischt. Diese Mischpreßsäfte wurden nach der Halbblatt-Methode auf *Physalis floridana* verglichen. Als Kontrolle diente eine Mischung von dest. Wasser und von infektiösem Preßsaft.



Temp. C	$\bar{x}$	d	s_d	N	Relativwerte
21°	28	18***	14,7	24	100
4°	10			24	36
21°	51	30***	17,9	27	100
10°	21			27	41
21°	24	8**	6,3	11	100
16°	16			11	67
21°	35	3°	20,3	37	100
30°	38			37	108
21°	25	15***	11,0	17	100
36°	10			17	40
21°	21	1°	6,7	18	100
H_2O	20			18	95

Abb. 7. Hemmende Wirkung auf Y-Virus-Preßsäfte durch Saftextrakte von nicht infizierten Tabakpflanzen, die drei Tage lang unterschiedlicher Temperatur (4 ° bis 36 ° C) ausgesetzt waren

In Abbildung 7 sind die Zahlen aus zwei Wiederholungen, die zu verschiedenen Jahreszeiten durchgeführt wurden, zusammengefaßt. Da Preßsaft aus Tabakpflanzen bei 21 ° C gegenüber Wasser keine oder nur geringe Hemmwirkung aufwies, konnten alle Werte auf 21 ° C = 100 bezogen werden. Die Differenzen zwischen 21 °-Pflanzen und 4 °-, 10 °-, 16 °- und 36 °-Pflanzen sind bei P = 1 % oder 0,1 % statistisch gesichert. Es ergab sich also eine hemmende Wirkung der Saftextrakte von gesunden Tabakpflanzen bei tiefen und hohen



Stdn.	°C	$\bar{x}$	d	s_d	N	Relativwerte
10	21	48	1	13,8	15	100
	10	47°			15	98
24	21	114	48	32,5	14	100
	10	66***			14	58
48	21	47	24	16,9	18	100
	10	23***			18	49
72	21	32	21	16,9	13	100
	10	11***			13	34

Abb. 8. Zunehmende Hemmwirkung in Saftextrakten von nicht infizierten Tabakpflanzen, die verschieden lange einer Temperatur von 10 ° C ausgesetzt worden waren. Die Saftextrakte wurden verglichen mit Preßsäften aus Pflanzen bei 21 ° C

Temperaturen, die im wesentlichen der Empfänglichkeit der Pflanzen bei entsprechenden Temperaturen entspricht (Abb. 3).

Schon nach 24stündiger Einwirkung von 10 ° C auf nicht infizierte Tabakpflanzen konnte in ihrem Saftextrakt bei Mischung mit virösem Preßsaft eine Hemmwirkung, gemessen an der Läsionenzahl auf *Ph. floridana*, festgestellt werden. Die Läsionenzahl wurde durch den Tabakpreßsaft nach 24stündiger Behandlung um 42 %, nach 48stündiger um 51 % und nach 72stündiger um 66 % verringert. Eine 10stündige Einwirkung von 10 ° C blieb ohne Einfluß (Abb. 8).

Für die nächsten Versuche wurden alle Pflanzen vor Versuchsbeginn durch eine 48stündige Dunkelperiode bei 21 ° C stärkefrei gemacht, anschließend standen sie 48 Stunden bei unterschiedlichen Temperaturen in *Dunkelheit*. Die Verringerung der Läsionenzahl durch Mischung virösen Saftes aus belichteten 21 °-Pflanzen (Tabak) mit Preßsaft von dunkel gehaltenen 10 °-Pflanzen war etwas schwächer als die Hemmwirkung des Preßsaftes aus belichteten 10 °-Pflanzen, aber doch noch gegenüber 21 ° C statistisch gut gesichert. Saftextrakt dunkel gehaltener 36 °-Pflanzen hatte die gleiche hemmende Wirkung wie der von Pflanzen unter denselben Bedingungen bei Licht (Tab. 11).

Tabelle 11

Hemmwirkung des Saftextraktes von Tabakpflanzen in unterschiedlichen Temperaturbereichen (48 Stunden) bei **Licht** und **Dunkelheit** auf Y-Virus-haltige Preßsäfte von Tabakpflanzen bei 21 ° C und Licht

	Temperatur °C	$\bar{x}$	d	s_d	N	Relativwerte
Langtag (hell)	**10**	21[1]	30***	17,9	27	**41**
	21	51				**100**
	36	10	15***	11,0	17	**40**
	21	25				**100**
dunkel	**10**	100	59***	41,1	14	**63**
	21	159				**100**
	36	48	61***	37,2	22	**44**
	21	109				**100**

[1]) Läs./Halbblatt, Mittel aus 27 Einzelwerten.

Die hemmende Wirkung des Preßsaftes muß also auf Hemmstoffe zurückgeführt werden, die sich weitgehend unabhängig vom Licht, also ohne Stärke- oder Zuckeranhäufung, bei tiefer und hoher Temperatur schon nach 24 Stunden gebildet haben. Diese Hemmstoffe

verschwinden jedoch verhältnismäßig rasch aus den Tabakpflanzen, wenn diese bei 21 ⁰ C weiterkultiviert werden. So ließ sich in Tabakpflanzen, die bei 10 ⁰ C nachweislich Hemmstoffe gebildet hatten und bei 21 ⁰ C gehalten wurden, die Hemmwirkung des Saftextraktes nach 24 Stunden und manchmal auch nach 48 Stunden bei 21 ⁰ C nachweisen, nicht aber nach 72 Stunden.

Auch in anderen Wirtspflanzen, wie beispielsweise *Physalis floridana* und *Solanum tuberosum* (Sorte Erdgold), ließen sich Hemmstoffe unter dem Einfluß tiefer und hoher Temperatur feststellen. Aus Tabelle 12 sind die Unterschiede zwischen 10 ⁰ und 21 ⁰ C zu ersehen.

Tabelle 12

Wirkung hemmstoffhaltigen Preßsaftes aus verschiedenen Pflanzen, die bei 10⁰ C gehalten worden waren, nach Mischung mit virösem Saftextrakt aus Tabak- und *Physalis*-Pflanzen bei 21⁰ C

Hemmstoff-Saft von	Virus-Saft von	Temp. °C	$\bar{x}$	d	s_d	N	Relativwerte
Physalis	Tabak	**10**	10[1])	20***	18,6	17	**32**
		21	30				**100**
Physalis	*Physalis*	**10**	16	33**	39,3	14	**34**
		21	49				**100**
Tabak	Tabak	**10**	24	33***	19,6	18	**42**
		21	57				**100**
Kartoffel (Erdgold)	Tabak	**10**	6	11***	7,7	20	**35**
		21	17				**100**

¹) Läs./Halbblatt, Mittel aus 17 Einzelwerten.

Tabelle 13

Hemmstoffwirkung im Saftextrakt von *Physalis floridana* unterschiedlichen Alters bei 10⁰ C (48 Stunden)

Preßsaft aus	Temp. °C	$\bar{x}$	d	s_d	N	Relativwerte
C (alten Pfl.)	**21**	81[1])	23**	29,6	18	**100**
	10	58				**72**
A mittl. Alter	**21**	98	55***	39,4	14	**100**
	10	43				**44**
B (jungen Pfl.)	**21**	135	23°	47,2	18	**100**
	10	112				**83**

¹) Läs./Halbblatt, Mittel aus 18 Einzelwerten.

Eine Prüfung des Saftextraktes j u n g e r und a l t e r, fruktifizierender *Physalis*-Pflanzen (Stadium B und C) im Vergleich zu Pflanzen des normalen

Testalters (Stadium A) bei 10 ⁰ und 21 ⁰ C zeigte, daß die Hemmwirkung in den Pflanzen des Stadiums B und C geringer als in denen mittleren Alters war. In alten Pflanzen lag sie aber wesentlich höher als in jungen, in denen sie nur 17 % gegenüber 21 ⁰ C betrug (Tab. 13).

Im Kartoffellaub konnte auch bei mittleren Temperaturen Hemmstoff nachgewiesen werden, dessen Wirkung aber in Pflanzen bei tiefer Temperatur weiter anstieg (10 ⁰ C, siehe Tab. 12). Im Vergleich zu Saftextrakt aus *Physalis floridana* wurde die Läsionenzahl durch Kartoffellaub-Preßsaft um 65—70 % vermindert.

Auch W u r z e l n von Tabakpflanzen enthalten Hemmstoffe. Preßsäfte aus gut gesäuberten Tabakwurzeln von 21 ⁰-Pflanzen verminderten nach Mischung mit virösem Tabakblatt-Preßsaft die Läsionenzahlen beträchtlich. Wurzelextrakt aus 10 ⁰-Pflanzen verringerte im Vergleich zu Wurzelpreßsaft aus 21 ⁰-Pflanzen die Läsionenzahl um weitere 67 %. Eine Hemmwirkung des Wurzelpreßsaftes von Tabak und Tomaten auf TMV-Infektionen wurde von FULTON (1941) beobachtet.

b) Hemmstoffbildung im Licht bei 20 ⁰ C

BAWDEN und ROBERTS (1948), die für Tabaknekrose-Virus auf *Phaseolus vulgaris* und *Nicotiana tabacum*, Tomaten-Aucubavirus auf *N. tabacum*, ferner Tabak-Mosaikvirus und Tomaten-Bushy stunt-Virus auf *N. glutinosa* eine erhöhte Empfänglichkeit der Pflanzen durch Dunkelperioden vor der Inokulation beobachteten, prüften die Preßsäfte von Bohnen- und Tabakpflanzen auf Hemmstoffwirkung. Sie fanden, daß Saftextrakte sowohl aus dunkel gehaltenen Pflanzen wie aus solchen bei Licht in normalen Gewächshausbedingungen nach Mischung mit infektiösem Preßsaft die Läsionenzahl in gleichem Maße verringerten.

In den folgenden Untersuchungen wurde der Preßsaft aus belichteten Pflanzen von *Ph. floridana* (Gewächshaus) auf Hemmwirkung gegenüber Y-Virus nach der Einzelherdmethode geprüft. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der englischen Autoren bei oben angeführten Viren konnte die Läsionenzahl bei Y-Virus durch Zugabe von Saftextrakt aus Pflanzen unter Langtagsverhältnissen im Vergleich zu 72 Stunden lang dunkel gehaltenen Pflanzen um 44 % verringert werden. Ergebnisse aus zwei Wiederholungen sind aus Tabelle 14 zu entnehmen.

Tabelle 14

Hemmwirkung des Saftextraktes aus *Physalis floridana* bei Licht und 20 ⁰ C

	$\bar{x}$	d	s_d	N	Relativwerte
Licht (Langtag)	62	49***	49,9	36	56
Dunkelheit (72^h)	111			36	100

V. Versuche zur Wirkungsweise der Hemmstoffe

Die beobachtete Wirkung der Hemmstoffe kann dadurch zustandekommen, daß sie *in vitro* bei Mischung mit virushaltigem Preßsaft direkt mit den Viruspartikeln reagieren, sie zerstören oder durch Blockierung in eine inaktive Form überführen, oder *in vivo* erst wirksam werden, wenn sie nach der Inokulation in der Wirtszelle die Ansiedlung der Viren, vielleicht ihre Vereinigung mit Bestandteilen der Zelle, die für die Vermehrung wichtig sind, oder auch ihre Vermehrung selbst verhindern (Bawden 1950). In beiden Fällen muß eine Verringerung der Läsionenzahl eintreten.

Um diese Frage zu klären, wurden in Anlehnung an Versuche anderer Autoren (Gupta und Price 1950, 1952), die Pilzextrakte auf Hemmstoffgehalt untersuchten, infektiöser Saft und Hemmstofflösung im Verhältnis 1 : 1, 1 : 2 und 10 : 1 gemischt, ferner eine konstante Hemmstoffmenge unterschiedlichen Verdünnungen des Viruspreßsaftes zugegeben und die Einwirkungszeit in vitro von 0—10 Minuten bis auf 120—140 Minuten ausgedehnt. Tabelle 15 zeigt, daß mit diesen Abwandlungen keine Änderung der Virusaktivität verbunden ist. Weiterhin wurde geprüft, wieweit bei getrennter Inokulation von Hemmstoff-Preßsaft und virushaltigem Pflanzensaft die Läsionenzahl beeinflußt wird. *Physalis*-Blätter wurden zunächst mit dem hemmstoffhaltigen Saftextrakt aus 10 °-Pflanzen bzw. Preßsaft aus 21 °-Pflanzen unter Verwendung von Karborund eingerieben, mit Wasser gründlich abgewaschen und nach weiteren 3—5 Minuten infektiöser Pflanzensaft

Tabelle 15

Virusaktivität bei Zusatz von hemmstoffhaltigem Tabakpreßsaft in verschiedenen Mengen und bei unterschiedlicher Einwirkungszeit in vitro zu virösem Preßsaft unterschiedlicher Verdünnungen

Verdünnung Virussaft mit Wasser	Verhältnis Hemmst.: Virus (Saft in ccm)	Einwirkung in vitro (in Min.)	Temp. °C	$\bar{x}$	d	s_d	N	Relativwerte
1:10	2:1	0—10	**21**	57	33***	19,6	18	**100**
			10	24				**42**
1:10	1:10	0—10	**21**	65	39**	37,2	15	**100**
			10	26				**40**
1:10	2.1	120—140	**21**	24	15***	8,5	20	**100**
			10	9				**37**
1:50	1:1	0—10	**21**	32	19***	19,2	17	**100**
			10	13				**41**
1:250	1:1	0—10	**21**	7,5	5,4***	5,4	20	**100**
			10	2,1				**38**

mit Karborund inokuliert. Als Vergleich wurde die hemmende Wirkung des Hemmstoff-Virus-Gemisches geprüft. Tabelle 16 zeigt, daß die Läsionenzahl bei getrennter Inokulation in gleichem Maße wie bei der Inokulation des Gemisches von Hemmstoff und Virus vermindert ist.

Tabelle 16

Vergleich der Hemmwirkung des Tabakpreßsaftes bei **getrennter** Inokulation von Hemmstoff und virösem Saft mit der Hemmwirkung bei Inokulation des Preßsaft**gemisches**

Art der Inokulation	Temp. °C	$\bar{x}$	d	s_d	N	Relativwerte
Virus-Hemmstoff-Gemisch	**21**	111	59***	29,9	15	**100**
	10	52				**47**
Virus und Hemmstoff getrennt	**21**	105	51***	19,4	15	**100**
	10	54				**51**

Zur Beantwortung der Frage über die Wirkungsweise der Hemmstoffe sollte auch folgender Versuch beitragen. Pflanzen von *Physalis floridana* in drei verschiedenen Altersstadien wurden zum Vergleich mit demselben hemmstoffhaltigen (Saftextrakt aus Pflanzen bei 10 ° C) und hemmstofffreien virösen Saft nach der Halbblattmethode inokuliert. Altersstadium I = Stadium B (Abb. 2), Stadium II = A, drei Wochen ältere Pflanzen mit Fruchtansatz = III.

Wie aus Tabelle 17 zu ersehen ist, tritt die Hemmwirkung bei Inokulation des Saftextraktes von 10 °-Pflanzen auf jüngeren Blättern und auf jüngeren Pflanzen nur schwach in Erscheinung.

Tabelle 17

Verringerung der Läsionenzahl durch 10° C-Saftextrakt im Vergleich zu Preßsaft aus 21°-Pflanzen auf Pflanzen (I bis III) und Blättern (11. bis 15.) unterschiedlichen Alters

Blatt	Reduktion der Läsionen um % Altersstadium der Pflanzen		
	I	II	III
11. - 13.	24	53	55
14.	4	29	44
15.			4
11. - 14.	14	41	49

Auch auf gleichaltrigen Pflanzen wirkt sich bisweilen die hemmende Wirkung desselben Saftextraktes nach der Zahl der auftretenden Läsionen unterschiedlich aus. So konnte beispielsweise auf Pflanze 1 eine Verminderung der Läsionenzahl um 60 %, dagegen auf gleichaltrigen und im Habitus sehr

ähnlichen Pflanzen 2 und 3 nur eine um 38 % bzw. 25 % beobachtet werden, als Saftextrakt von 36 °-Pflanzen mit dem von 21 °-Pflanzen verglichen wurde.

Alle diese Beobachtungen zusammen sprechen dafür, daß die Hemmstoffe nicht auf die Viruspartikeln in vitro direkt wirken, sondern erst in der Pflanze, in vivo, nach der Inokulation die Ansiedlung oder erste Vermehrung der Viren beeinträchtigen.

Hieraus ergibt sich die Frage, ob die hemmenden Substanzen die Ansiedlung der Viren in den Wirtszellen blockieren oder aber ihre erste Vermehrung, die zur Ausbildung der Läsionen führt, verhindern. Zur Beantwortung wurde hemmstoffhaltiger Saftextrakt aus 10 °-Pflanzen 20 Stunden nach der Inokulation in die infizierten Blätter von *Ph. floridana* eingerieben. Diese Behandlung hatte auf die Zahl der sich entwickelnden Läsionen keinen Einfluß mehr (Tab. 18). Da die Ansiedlung des Virus in den Zellen in den ersten Stunden nach allgemeiner Auffassung vollzogen ist, scheint der Hemmstoff die Ansiedlung und nicht die Virusvermehrung zu beeinflussen (Tab. 18).

Tabelle 18

Einreiben von Saftextrakt aus Pflanzen bei 10° und 21° C 20 Stunden nach der Inokulation von Y-Virus auf Blätter von *Physalis floridana*

Saftextrakt aus	$\bar{x}$	d	s_d	N	Relativwerte
21° C	50	3°	17,7	16	**100**
10° C	47			16	**94**

VI. Versuche zur chemischen Natur der Hemmstoffe

Über die Natur der Hemmstoffe ist noch nichts bekannt. Chlorophyll wurde aus dem Preßsaft durch pH-Veränderung mit $^{1}/_{10}$ NaOH (pH = 6,9) ausgefällt. Nach Reinigung durch Zentrifugieren bei 5000 U/Min. verlor dieser Saftextrakt 20 % seiner Hemmwirkung, was auf die pH-Veränderung zurückzuführen sein mag.

Erhitzen des Preßsaftes auf 60 ° C für 10 Minuten blieb ohne Einfluß auf die Hemmwirkung; erst bei Erhitzen auf 70—80 ° C ging diese verloren.

Blieb der hemmstoffhaltige Saftextrakt 24 Stunden an der Luft bei 4—5 ° C stehen, so war die Hemmwirkung nicht beeinträchtigt, wohl aber nach 48—72 Stunden. Wurde er in einer Stickstoff-Atmosphäre hergestellt und in Ampullen unter Sauerstoff-Abschluß bei 4—5 ° C aufbewahrt, so blieb etwa 50 % der Hemmwirkung 2, 3 und 4 Tage erhalten. Vermutlich büßen die hemmenden Substanzen durch Oxydationsvorgänge ihre Wirkung ein.

Nach einstündigem Ultrazentrifugieren bei 15 000, 25 000 und 40 000 Umdrehungen/Minute konnten Hemmstoffe in den Niederschlägen nicht nachgewiesen werden, sie blieben in der darüberstehenden Lösung zurück. Ihre Isolierung und chemische Analyse ist dadurch besonders erschwert.

Diskussion der Ergebnisse

In den vorliegenden Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß die Empfänglichkeit von Pflanzen für Kartoffel-Y-Virus bei kurzfristiger Einwirkung von niedriger und hoher Temperatur sowie bei Licht beträchtlich vermindert werden kann. Wiederholte Versuche in allen Jahreszeiten führten zu gleichen Ergebnissen, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß die Anzucht der Pflanzen im Herbst, Winter und Frühling unter künstlicher Zusatzbeleuchtung (Langtag) durchgeführt wurde.

In der Literatur ist über den Einfluß der Temperatur auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Viren bisher nur wenig berichtet worden. Kassanis (1952) beobachtete eine wesentliche Erhöhung der Empfänglichkeit verschiedener Pflanzen für mehrere Viren durch Einwirken von 36 ° C (6—96 Stunden) vor der Inokulation. Damit stehen meine Beobachtungen bei Y-Virus insofern in Einklang, als eine 10stündige Einwirkung von 36 ° C die Empfänglichkeit von *Physalis floridana* (Blühstadium) um 54 % gegenüber 21 ° C erhöhte (Tab. 1). Wurde die Dauer der hohen Vortemperatur aber auf 16—96 Stunden verlängert, so trat — im Gegensatz zu den englischen Ergebnissen bei anderen Viren — eine erhebliche Verminderung der Läsionenzahl im Vergleich zu 21 ° C ein.

Die anfängliche Förderung der Empfänglichkeit durch 36 ° C mag wie bei Dunkelperioden (Bawden und Roberts 1947, 1948) auf der Abnahme des Assimilatgehaltes durch starke Atmung beruhen. Ihre Wirkung wird aber offenbar bei Andauern der hohen Temperatur von anderen Vorgängen in der Wirtszelle überdeckt, welche die Ansiedlung oder erste Vermehrung des Virus im Wirt hemmen.

Tiefe Temperaturen (4 °, 10 ° C) verminderten die Empfänglichkeit von *Ph. floridana* bei einer Einwirkungsdauer von 16—96 Stunden ebenfalls, eine 10stündige Einwirkung war dagegen ohne Einfluß. In jungen Pflanzen (Abb. 2 B) war die durch hohe wie tiefe Temperatur induzierte Hemmung nur sehr gering (Verringerung der Läsionenzahl um 18 bzw. 13 %). Köhler teilte neuerdings (1956) mit, daß X-Virus in der Wanderung von der Stengelbasis zur Sproßspitze in älteren Tabakpflanzen stark gehemmt wird, nicht aber in jungen Pflanzen oder Pflanzenteilen. Auch Diercks (1953) und Beemster (1954) fanden in jungen Kartoffelpflanzen eine schnellere Wanderung von X-Virus als in älteren.

Bawden (1950) unterscheidet zwei Phasen der Infektion: 1. Eintritt der Viruspartikel in die Wirtszelle und Kontakt mit Faktoren, die für die Ansiedlung und Vermehrung von Bedeutung sind, 2. Vermehrung des Virus, die bei Einzelherdpflanzen zur Entwicklung von Lokal-Läsionen führt. Faktoren, die die erste Phase beeinflussen, müssen nach seiner Auffassung nicht gleichzeitig auch auf die zweite einwirken. Nach Kalmus und Kassanis (1944) wird die Empfänglichkeit der Pflanze nämlich beträchtlich vermindert, wenn Pflanzen eine Stunde vor oder unmittelbar nach der Inokulation einer Atmosphäre mit einem 30—60%igen CO_2-Gehalt ausgesetzt werden. Erfolgt die CO_2-Einwirkung dagegen erst 4 Stunden nach der Inokulation, so bleibt die Verminderung der Läsionenzahl aus, eine Beob-

achtung, die ich für Y-Virus bestätigen kann. CO_2 beeinflußt also wohl die erste, aber nicht die zweite Phase. Dasselbe gilt für die Wirkung des Lichtes auf die Infektion nach BAWDEN (1950).

Welche Infektionsphase wird nun durch tiefe und hohe Vortemperatur beeinflußt? Eine 24- und mehrstündige Einwirkung von 10° C vor der Inokulation verminderte die Läsionenzahl, eine 40stündige 4 Stunden nach der Inokulation beeinträchtigte sie dagegen nicht. Daraus ist zu schließen, daß tiefe Temperatur vor der Inokulation zwar die vermutlich in den ersten 4 Stunden vollzogene Ansiedlung der Viren (1. Phase) in den Wirtszellen, aber nicht ihre Vermehrung (2. Phase) hemmt. Eine 40stündige Einwirkung von 36° C nach der Inokulation verringerte dagegen die Läsionenzahl gegenüber den Kontrollen bei 16° C um 42 %. Unter solchen Bedingungen fand auch KASSANIS (1952) nur eine beschränkte Vermehrung des Tabakmosaik- und Bronzeflecken-Virus; bei anderen Viren (Tabaknekrose-, Bushy stunt- oder Gurkenmosaik-Virus) wurden Infektionen überhaupt nicht sichtbar, wenn die Wirtspflanzen nach der Inokulation einige Stunden 36° C ausgesetzt worden waren. THOMSON (1956) konnte Keime der mit X- und Y-Virus verseuchten Kartoffelsorte Aucklander Short Top (in Neuseeland) zum Teil frei von Y-Virus heranziehen, wenn gekeimte Knollen oder Keime längere Zeit 35° oder 38° C ausgesetzt worden waren.

Während also kurzfristige tiefe Temperatureinwirkung nur die Ansiedlung der Viren in den Wirtszellen zu hemmen scheint, beeinflußt 36° C sowohl Ansiedlung wie Vermehrung.

Es liegt die Frage nahe, wie sich die Verminderung der Empfänglichkeit bei tiefen und hohen Temperaturen erklären läßt. Da sich bei tiefer Temperatur das Verhältnis zwischen Assimilation und Atmung zugunsten der ersteren verschiebt, könnte die Virusinfektion durch Anhäufung von Assimilaten erschwert werden (Abb. 5). Dafür spricht, daß verstärkte Assimilatanhäufung bei höherer Lichtintensität sowohl bei mittlerer (21° C) wie tiefer Temperatur (10° C) die Empfänglichkeit herabsetzte. Andererseits konnte aber nie bei besonders anfälligen Pflanzen ein sehr geringer und bei verhältnismäßig resistenten ein hoher Zuckergehalt festgestellt werden. Assimilate können auch deshalb schwerlich die wichtigste Ursache der Empfänglichkeitsverminderung sein, da die Anfälligkeit assimilatfreier Pflanzen in Dunkelheit bei sowohl tiefer wie hoher Temperatur in gleichem Maße wie die von Pflanzen bei Licht geringerer Intensität (Klimakammerbeleuchtung) herabgemindert war. Offenbar werden also in der Pflanze vom Licht (niedrige Intensität) weitgehend unabhängige Prozesse bei tiefer und hoher Temperatur eingeleitet, die die Virusinfektion hemmen.

Diese Empfänglichkeitsverminderung geht mit der Bildung von Hemmstoffen parallel, denn Saftextrakt nicht infizierter Pflanzen, die 24 bis 96 Stunden bei tiefer oder hoher Temperatur (Licht oder Dunkelheit) gestanden hatten, verminderte nach Mischung mit infektiösem Saft und Einreiben dieses Saftgemisches die Zahl der Läsionen gegenüber Extrakt aus 21°-Pflanzen. KÖHLER (1954) macht freilich mit Recht darauf aufmerksam, daß der aus der Wirkung von Extrakten gezogene Schluß, die Verminderung

der Virusaktivität (hier Empfänglichkeit der Pflanze) sei der Wirkung eines nachweisbaren, in der lebenden Zelle wirkenden Hemmstoffes zuzuschreiben, nicht ohne weiteres berechtigt ist; denn „da das Virus im Plasma lokalisiert ist, können inaktivierende Stoffe, die sich in den Vakuolen oder speziellen Organen, wie Drüsenhaaren, befinden, in der Pflanze selbst völlig einflußlos sein und ihre Wirkung auf das Virus erst im Preßsaft erhalten". Da aber die von der Temperatur beeinflußte Empfänglichkeit der Pflanze mit der entsprechenden Hemmwirkung ihrer Saftextrakte weitgehend übereinstimmt (vgl. Abb. 3 u. 4 mit 7 u. 8), erscheint mir die Annahme einer Beziehung zwischen Empfänglichkeit und Hemmstoffgehalt gerechtfertigt. Dieses übereinstimmende Verhalten sei deshalb hier noch einmal zusammenfassend herausgestellt:

1. Nach zehn Stunden Vortemperatur von 10 ° C war weder eine Wirkung auf die Empfänglichkeit noch eine hemmende Wirkung des Saftextraktes zu beobachten.

2. Die Hemmwirkung des Preßsaftes aus Pflanzen nach 24stündiger Einwirkung von tiefer Temperatur entsprach der verringerten Empfänglichkeit in gleicher Weise behandelter Pflanzen, sie nahm mit Verlängerung der Einwirkungszeit auf 72 Stunden entsprechend der jeweiligen Empfänglichkeit zu.

3. Durch mehrtägige Einwirkung tiefer und hoher Temperatur sowohl bei Licht (niedrige Intensität) wie in Dunkelheit wurde die Empfänglichkeit der Pflanzen in etwa gleichem Maße vermindert wie die Hemmwirkung solcher Pflanzen anstieg.

4. Junge Pflanzen verringerten unter der Einwirkung tiefer und hoher Temperatur ihre Empfänglichkeit nur unwesentlich und wiesen auch in ihrem Saftextrakt eine geringe Hemmwirkung auf.

In Abhängigkeit von der Temperatur waren Hemmstoffe sowohl in Pflanzen von *Physalis floridana* und *Nicotiana tabacum* als auch im Kartoffellaub (Sorte Erdgold) nachweisbar. Saftextrakt aus Kartoffelblättern hatte bei 20 ° C eine hemmende Wirkung, die mit ansteigender wie abnehmender Temperatur zunahm. Ob dabei die Wirkung desselben Hemmstoffkomplexes verstärkt oder andere Substanzen gebildet oder aktiviert werden, muß offenbleiben. Möglicherweise beruht die schon oft erwähnte geringe Infektiösität der Viren in Kartoffellaub auf Hemmstoffen. Vielleicht ist auch die Hemmwirkung bei unterschiedlichen Temperaturen in verschiedenen Kartoffelsorten unterschiedlich. Nach WHITEHEAD, MCINTOSH und FINDLAY (1953) sind bisher in Kartoffeln keine Hemmstoffe nachgewiesen worden, wobei freilich das Y-Virus nicht einbezogen worden ist.

Wurde hemmstoffhaltiger Saftextrakt nicht infizierter Pflanzen von *Physalis floridana* mit Saft infizierter *Physalis*-Pflanzen gemischt, so war die Hemmwirkung ebenso groß wie die der Hemmstoffe im Preßsaft von gesunden *Nicotiana tabacum*-Pflanzen, wenn beide Saftgemische auf *Physalis* getestet wurden. Das ist insofern auffällig, als BAWDEN und PIRIE (1952) in

einem Überblick über Hemmstoffversuche angeben, es scheine eine allgemeine Eigenschaft hemmender Substanzen aus höheren Pflanzen zu sein, daß sie die Infektion solcher Spezies, in denen diese Hemmstoffe gebildet werden, nur wenig beeinflußten.

Weiter war die Frage aufzuwerfen, ob Hemmstoffe mit den Viruspartikeln im Preßsaft direkt reagieren oder erst in der Wirtspflanze ihre Ansiedlung oder erste Vermehrung beeinträchtigen. Thornberry (1935), Bawden und Pirie (1936), Johnson (1941), Loring (1942), Takahashi (1946), Stahmann et al. (1951) und Weintraub mit Gilpatrick (1952) vermuten bei den von ihnen geprüften Hemmstoffen eine direkte Wirkung auf das Virus, während andere, besonders Chester (1934), Stanley (1934) und Black (1939), ferner Bawden und Freeman (1952) und Gupta und Price (1952) annehmen, daß die Mehrzahl der Hemmstoffe erst die Infektion in der Wirtspflanze beeinflußt. Für die letzte Auffassung spricht nach Ansicht der Autoren vor allem, daß eine konstante Hemmstoffkonzentration unabhängig von der Viruskonzentration die gleiche Verminderung der Infektiösität hervorrief, und daß in manchen Fällen bei zeitlich voneinander getrennter Inokulation von Virus und Hemmstoff die Läsionenzahl verringert und eine unterschiedliche Hemmwirkung eines Stoffes je nach der Wirtspflanzenart beobachtet wurde. Die Pflanzen brauchen nicht einmal verwandtschaftlich weit auseinanderzustehen, um auf einen Hemmstoff unterschiedlich zu reagieren. Gendron und Kassanis (1954) fanden beispielsweise, daß ein Polysaccharid aus *Trichothecium roseum* TMV-Infektionen in *Nicotiana glutinosa* stark, in *N. tabacum* dagegen gar nicht hemmte.

Die Untersuchungen mit Y-Virus haben gezeigt, daß man eher eine Beeinflussung der Virusansiedlung und -vermehrung in den Wirtszellen durch Hemmstoffe annehmen muß als eine Inaktivierung oder Blockierung der Viruspartikeln in vitro in Virus-Hemmstoffgemischen. Dafür sprechen folgende Feststellungen: 1. Die Hemmwirkung war weitgehend unabhängig von der Viruskonzentration, 2. die Einwirkungszeit des Hemmstoffes in vitro war ohne Einfluß auf die Virusaktivität, 3. getrenntes Einreiben von Hemmstoff und virösem Saft beeinflußte die Hemmwirkung nicht, 4. bei Inokulation älterer Blätter und Pflanzen wirkte sich der Hemmstoff viel stärker aus als bei Inokulation junger Blätter und Pflanzen, 5. Inokulation des gleichen Virus-Hemmstoffgemisches rief manchmal eine unterschiedliche Wirkung bei gleichaltrigen Pflanzen hervor.

Wurde hemmstoffhaltiger Saftextrakt von Pflanzen bei 10° C 20 Stunden nach der Inokulation des Virus in die Blätter eingerieben, also wenn die Virusvermehrung nach allgemeiner Auffassung bereits begonnen hat, so wurde die Läsionenzahl nicht beeinflußt. Daraus muß geschlossen werden, daß der Hemmstoff weniger die Virusvermehrung als die Ansiedlung der Viruspartikeln in den Wirtszellen beeinflußt. Dabei sei noch einmal daran erinnert, daß kurzfristige Einwirkung tiefer Temperatur nach der Inokulation auch die Läsionenzahl nicht verringert, also eine Parallelität zwischen den Befunden in den Pflanzen bei der Infektion und Versuchen mit Hemmstoff besteht.

Über den Infektionsvorgang, das heißt die Ansiedlung des Virus in der Wirtszelle, ist vorerst so wenig bekannt, daß Überlegungen über die Art der Einwirkung der Hemmstoffe auf diesen Vorgang allzu spekulativ erscheinen müssen. Eine Eklipse ist bei pflanzenpathogenen Viren aus methodischen Gründen schwer einwandfrei nachweisbar (SCHRAMM 1954); einige Beobachtungen sprechen eher für als gegen sie. So fanden TAKAHASHI und ISHII (1953) im Saftextrakt von mit TMV infizierten Tabakpflanzen ein spezifisches Protein, das serologisch dem TMV gleicht und zu einem TMV-ähnlichen Stäbchen polymerisiert werden kann, aber keine Nukleinsäure enthält und nicht infektiös ist. COMMONER und Mitarbeiter (1953) kamen zu gleichen Ergebnissen und vermuten, daß solche Proteine mit niedrigem Molekulargewicht eine wichtige Rolle bei der Vermehrung spielen. KÖHLER (1955) führt noch weitere Befunde an, die in dieselbe Richtung weisen. Die Hypothese über die Bildung nichtinfektiöser Vorstufen bei der Ansiedlung der Viren in den Wirtszellen ist demnach keineswegs abwegig (vgl. auch ZECH 1952). Da die hier nachgewiesenen Hemmstoffe offenbar nicht mit den Viruspartikeln in vitro reagieren, z. B. sie in eine inaktive Form überführen, sondern erst in der Wirtszelle bei der Ansiedlung, wahrscheinlich aber nicht bei der Vermehrung der Viren, wirksam werden, könnte man sich vorstellen, daß eventuell nur Vorstufen des Virus mit diesen Substanzen reagieren können und daran gehindert werden, infektiöse Partikeln zu bilden, oder aber daß — wie BAWDEN (1952, 1954) für andere Inhibitoren darlegte — die Hemmstoffe spezifische Zellelemente blockieren, mit denen sich die Viruspartikeln verbinden müssen, um sich vermehren zu können.

Während das Licht bei tiefen und hohen Temperaturen für die Veränderung der Empfänglichkeit fast bedeutungslos ist, hat es einen entscheidenden Einfluß im Temperaturbereich um 20° C. Beobachtungen von BAWDEN und ROBERTS (1947, 1948) treffen auch für das Y-Virus zu: dunkel gehaltene Pflanzen waren wesentlich anfälliger. BAWDEN und ROBERTS vermuten, daß die Assimilatstauungen bei Licht die Empfänglichkeit verringern. WILTSHIRE (1956 a und b) hält auf Grund eingehender Untersuchungen den Einfluß von organischen Säuren für nicht wahrscheinlich. Wegen des schnellen Verschwindens der Säuren nach Einsetzen der Dunkelperiode kann man nach Ansicht des Verfassers auch keine Wirkung durch labile photosynthetische Produkte (z. B. Phosphorglyzerinsäure) erwarten, weil Dunkelperioden erst nach längerem Einwirken die Empfänglichkeit der Pflanzen verändern. HUMPHRIES und KASSANIS (1955) stellten in Untersuchungen über Aucubamosaik-Virus eine Korrelation zwischen Wassergehalt und Empfänglichkeit dunkel gehaltener Pflanzen fest. TINSLEY (1953) fand eine zunehmende Anfälligkeit bei erhöhter Wasserzufuhr vor der Inokulation. In längeren Dunkelperioden mag deshalb die Veränderung der Empfänglichkeit mit einer Erhöhung des Wassergehaltes und Abnahme des Trockengewichtes in Beziehung stehen. Nach HUMPHRIES und KASSANIS soll der Nitratgehalt, der ebenfalls mit der Empfänglichkeit streng parallel läuft, bedeutungslos sein, während HITCHBORN (1954) Änderungen der Anfälligkeit von *Phaseolus vulgaris* für Tomatenmosaik- und Tabaknekrose-Virus gerade auf Verände-

rungen in ihrem Stickstoff-Stoffwechsel zurückführt, weil durch Dunkelperioden die Empfänglichkeit der N-Überschußpflanzen im Gegensatz zu N-Mangelpflanzen kaum erhöht wird, während Unterschiede in der tageszeitlichen Empfänglichkeit gerade durch hohe Stickstoffgaben hervortreten.

In vorliegenden Untersuchungen läßt die Erhöhung der Empfänglichkeit der Pflanzen in einer Dunkelperiode auf gewisse Bedeutung der Assimilate schließen, zumal eine Zunahme der Empfänglichkeit auch dann zu beobachten war, wenn Pflanzen im Licht durch CO_2-Mangel an der Assimilation weitgehend gehindert wurden, so daß bei Inokulation keine Stärke nachweisbar war (vgl. auch WILTSHIRE 1956). Umgekehrt nahm die Anfälligkeit ab, wenn die Pflanzen im Dunkeln durch den Sproß Saccharose aufnehmen konnten.

Entscheidend können Assimilatanhäufungen nicht sein, denn schon kurze Lichtperioden von einer Stunde je Tag oder weniger verringerten die Empfänglichkeit. Es ist auch unwahrscheinlich, daß sich durch kurze Unterbrechung der Dunkelperiode Trockengewicht und Wassergehalt entscheidend verändern. Da die Lichtperiode drei Stunden oder weniger vor oder während der Inokulation im allgemeinen wirkungslos blieb, ist anzunehmen, daß die bei Belichtung gebildeten Assimilationsprodukte nicht direkt die Virusansiedlung beeinflussen, sondern Reaktionen einleiten oder Stoffe aktivieren, die dann nach einer Zeitspanne zur Wirkung kommen können.

In diesem Zusammenhang ist besonders wichtig, daß Wellenlängen im kurzwelligen Spektralbereich (400—500 mμ) wesentlich wirksamer sind als die des langwelligen Bereiches (Maximum 600 mμ). Bei Strahlungswirkungen auf Pflanzen kann man grundsätzlich zwei verschiedene Wirkungsrichtungen unterscheiden (Ullrich 1952): eine ernährungs- und eine reizphysiologische. Die hier zur Diskussion stehenden Beobachtungen dürften eher auf letzterer beruhen. Trophische Strahlungseffekte werden vornehmlich durch Lichtabsorption des Blattgrüns (im blauen und im roten Spektralbereich Maximum) ermöglicht, während reizphysiologische Wirkungen, wie photoperiodische Reaktionen, Phototropismus, Wachstumsänderungen usw., in begrenzten Strahlungsbereichen auftreten (Wirkungsspektrum). Reizphysiologische Wirkungen sind z. T. stark temperaturabhängig.

Mischung von infektiösem Saft mit Saftextrakt aus Pflanzen bei Licht (Langtag, 21 ^{0} C) verringerte gegenüber Saftextrakt aus 3 Tage lang dunkel gehaltenen Pflanzen auf *Physalis floridana* die Läsionenzahl um 44 %. Man könnte sich vorstellen, daß durch die Wirkung des Lichtes eines bestimmten Spektralbereiches in einer gewissen Zeitspanne Hemmstoffe gebildet oder aktiviert werden, die in einer Dunkelperiode wieder verschwinden und die sich hierdurch von den bei tiefen und hohen Temperaturen gebildeten hemmenden Substanzen unterscheiden. Diese Bildung oder Aktivierung der zur Verringerung der Empfänglichkeit führenden Hemmstoffe kann schwerlich von Assimilationsprodukten ausgehen, weil die Assimilation im Wellenbereich sowohl bei 450 mμ wie bei 600 mμ maximal ist, die Empfänglichkeit aber im wesentlichen nur im kurzwelligen Bereich vermindert wird. Da die Anfälligkeit in Dunkelheit durch Zuckerzufuhr nicht erhöht wird, im Licht

in CO_2-freier Atmosphäre dagegen ansteigt, liegt der Gedanke nahe, daß der in der Pflanze bei Licht vorhandene und bei Dunkelheit wieder verschwindende Hemmstoff durch Zucker bzw. Assimilate am Abbau oder an der Inaktivierung gehindert wird; ohne Assimilation in CO_2-freier Atmosphäre wird er auch bei Licht wirkungslos. Bezeichnend ist wieder, daß bei jungen Pflanzen die Anfälligkeit durch Dunkelperioden wesentlich geringer war als bei älteren.

Versuche von HITCHBORN, MATTHEWS, ferner HUMPHRIES und KASSANIS deuten darauf hin, daß die Empfänglichkeit der Pflanzen für die Viren außer durch Hemmstoffe offenbar auch durch andere Vorgänge mitbestimmt werden.

Im Freiland ist es wegen der Vielfalt gleichzeitig zur Geltung kommender Faktoren weitaus schwieriger, die Wirkung von Temperatur und Licht zu studieren; hinzukommt, daß man bei der systemisch erkrankenden Kartoffelpflanze die Empfänglichkeit nicht an der Zahl auftretender Läsionen prüfen kann. Auch wird zu untersuchen sein, inwieweit Temperatur und Lichtintensität die Infektion durch Blattläuse, die im Freiland für die Ausbreitung der Strichelkrankheit besonders wichtig sind, beeinflussen. Die Empfänglichkeit ist jedenfalls in Wochen mit kühler Witterung oder in kälteren Lagen (auch schon bei 16 ^{0} C) durch Hemmstoffbildung herabgesetzt. Die Hemmstoffe vermindern zudem die Virusaktivität in erkrankten Pflanzen. Da auch die Aktivität der Blattläuse bei kühler Witterung herabgesetzt ist, kann sich die Infektionsgefahr unter solchen Bedingungen wesentlich vermindern.

Die Untersuchungen haben schließlich gezeigt, daß eine Bestimmung der Viruskonzentration mit Hilfe der Einzelherdmethode bei Kartoffel-Y-Virus nicht möglich ist, da die Zahl der Läsionen durch Hemmstoffe beträchtlich beeinflußt werden kann; nur die Virusaktivität läßt sich erfassen. Inwieweit das auch für andere Viren zutrifft, kann nicht beurteilt werden. Doch ist anzunehmen, daß die unterschiedlichen Ergebnisse mehrerer Autoren bei Prüfung der Konzentration anderer Viren, die mit Hilfe der Einzelherdmethode im Vergleich zur Virusproteinbestimmung durchgeführt wurde, auf die Bildung von hemmenden Substanzen zurückzuführen sind.

Zusammenfassung

Den vorliegenden Untersuchungen lagen zwei Fragen zugrunde:

1. Inwieweit wird die Empfänglichkeit der Pflanzen für Kartoffel-Y-Virus
   a) von tiefer und hoher Temperatur bei Licht und Dunkelheit,
   b) von Licht bei mittlerer Temperatur (um 20 ^{0} C) bestimmt?
2. Läßt sich eine etwaige Veränderung der Empfänglichkeit auf hemmende Substanzen zurückführen?

1. Die Empfänglichkeit von *Physalis floridana* (Gewächshauspflanzen bei Blühbeginn, 24 ausgebildete Blätter), gemessen an der Läsionenzahl, wurde durch tiefe (4 °, 10 ° C) und hohe Temperatur (36 ° C) vor der Inokulation (Dauer 24 bis 96 Stunden) bei Licht wie bei Dunkelheit (stärkefreie Pflanzen) gegenüber Pflanzen bei 21 ° C um etwa 60 bis 65 % vermindert. Durch hohe Temperatur (36 ° C) wurde die Empfänglichkeit im Vergleich zu Pflanzen bei 21 ° C um 54 % erhöht, wenn die Einwirkungszeit zehn Stunden betrug; bei einer 16 Stunden langen Periode von 36 ° C trat eine Verminderung der Emfänglichkeit um 31 % auf. Mit zunehmender Einwirkungszeit von 36 ° C verminderte sich die Empfänglichkeit um 60 %. Eine 40stündige Einwirkung von 36 ° C nach der Inokulation (Beginn vier Stunden nach Inokulation) reduzierte die Läsionenzahl um etwa 42 %. Es wird daraus geschlossen, daß hohe Temperatur sowohl die Ansiedlung der Viren in den Wirtszellen wie ihre Vermehrung beeinflußt. Im Gegensatz zu 36 ° C blieb 10 und 16 Stunden Einfluß niedriger Temperatur (10 ° C) wirkungslos; erst eine 24stündige 10 °-Periode hatte eine 43%ige Verminderung der Läsionenzahl zur Folge. Vier Stunden nach der Inokulation hatten 40 Stunden 10 ° C keine Läsionen reduzierende Wirkung. Es wird deshalb vermutet, daß tiefe Temperaturen nur die Ansiedlung der Viren in den Zellen behindern. Die Empfänglichkeit von *Nicotiana tabacum* wurde durch niedrige Temperaturperioden ebenfalls verringert. Junge Pflanzen von *Physalis floridana* (zwölf ausgebildete Blätter) wiesen unter verschiedenen Vortemperaturen nur geringe Unterschiede auf: 10 ° C = 13 %, 36 ° C = 18 %.

Während das Licht bei tiefen und hohen Temperaturen weitgehend wirkungslos war, beeinflußte es die Empfänglichkeit im Temperaturbereich um 20 ° erheblich. Durch Dunkelperioden von 24 Stunden oder länger wurde die Empfänglichkeit von *Physalis floridana* für Y-Virus um 100 % erhöht; zehn Stunden Dunkelheit vor der Inokulation hatte keine große Wirkung. Wurde die Dunkelperiode zwölf oder bes. sechs Stunden vor der Inokulation eine Stunde, 15 Minuten oder in geringerem Maße fünf Minuten lang durch Tageslicht unterbrochen, so war die Empfänglichkeit beträchtlich herabgesetzt. Eine einstündige Lichtperiode mit Osram-Leuchtstoffröhren war sehr wirkungsvoll um 400 bis 500 mμ, während 600 mμ nur eine geringe Wirkung besaß. Offenbar haben photosynthetische Produkte nicht den größten Einfluß auf die Empfänglichkeit von *Physalis floridana* für das Y-Virus, weil sowohl roter wie blauer Spektralbereich photosynthetisch wirksam ist, während nur blaues Licht die Empfänglichkeit wesentlich beeinflußte. Junge Pflanzen (zwölf ausgebildete Blätter) zeigten nur geringfügige Unterschiede durch Licht- und Dunkelperioden.

2. Saft von nicht infizierten *Nicotiana tabacum, Physalis floridana* und Laub von Kartoffeln (Sorte Erdgold), die bei 4, 10, 16 und 36 ° C 24 und 72 Stunden lang bei Licht und Dunkelheit gehalten wurden, verminderten im Vergleich zu Preßsaft aus Pflanzen bei 21 ° C die Läsionenzahl, wenn dieser Extrakt mit Preßsaft infizierter Pflanzen gemischt wurde. Die

Unterschiede zwischen 21° C = 100 und tiefer wie hoher Temperatur sind für 4°, 10° und 36° C bei P % = 0,1, für 16° C bei P % = 1 statistisch gesichert. Preßsaft aus 21°-Pflanzen von *Physalis floridana* und *Nicotiana tabacum* besaß keine Hemmwirkung im Vergleich zu Wasser, das mit dem infektiösen Saft im gleichen Mengenverhältnis zugesetzt wurde; auch traten keine Unterschiede zwischen 21° und 30° C auf. Da nach dem Kurvenverlauf zwischen Empfänglichkeit der Pflanzen und Hemmwirkung ihrer Preßsäfte eine Parallele besteht, kann angenommen werden, daß die Verminderung der Empfänglichkeit bei tiefen und hohen Temperaturen in besonderem Maße durch unbekannte Hemmstoffe bewirkt wird. Im Saft von jungen Pflanzen war die Hemmwirkung gering (10° C = 17 %). Offenbar reagieren diese Hemmstoffe mit den Viruspartikeln nicht in vitro, sondern beeinflussen die Ansiedlung der Viren in den Wirtszellen: 1. Die Hemmwirkung war weitgehend unabhängig von der Viruskonzentration, 2. die Einwirkungszeit der Hemmstoffe in vitro war ohne Einfluß auf die Virusaktivität, 3. getrenntes Einreiben von Hemmstoff und virösem Saft beeinflußte die Hemmwirkung nicht, 4. bei Inokulation älterer Blätter und Pflanzen wirkten sich die Hemmstoffe viel stärker aus als bei Inokulation junger Blätter und Pflanzen, 5. die Inokulation des gleichen Virus-Hemmstoff-Gemisches rief manchmal eine unterschiedliche Wirkung bei gleichaltrigen Pflanzen hervor. Nach Ansiedlung der Viren in den Wirtszellen haben Hemmstoffe im Saft von 10°-Pflanzen keine Wirkung auf die Ausbildung der Läsionen (und damit auf die Zeit der Vermehrung) genauso wie eine 10°-Periode nach der Inokulation, denn hemmstoffhaltiger Saftextrakt aus 10°-Pflanzen, der 20 Stunden nach der Inokulation des Virus eingerieben wurde, veränderte die Läsionenzahl nicht. Pflanzenextrakte verloren ihre Hemmwirkung durch zehn Minuten Erhitzen auf 70 bis 80° C im Wasserbad. Durch einstündiges Ultrazentrifugieren von hemmstoffhaltigem Saft bei 15 000, 25 000 und 40 000 U/Minuten konnten hemmende Substanzen nicht in den Niederschlägen nachgewiesen werden, sie blieben in den darüberliegenden Lösungen zurück.

Hemmwirkungen im Saft von *Physalis floridana* bei 20° C und hoher Lichtintensität konnten — verglichen mit Saft aus 72 Stunden dunkel gehaltenen Pflanzen — festgestellt werden.

Summary

The susceptibility of *Physalis floridana* plants to infection by potato virus Y, as measured by the number of local lesions, was found to be influenced by temperature and by darkness.

Plants of *Physalis floridana* (24 developed leaves) produced 60—65 % fewer lesions (significant at 0,1 % level) if kept for 24—96 hrs. in light or darkness before inoculation with potato virus Y, at 4°, 10°, or 36° C, than at 21 C (Fig. 3 & Table 4). The number of lesions was increased by 54 % after 10 hrs. exposure at 36° C before inoculation, but was decreased by 31 % after 16 hrs. (Table 1), and by 60 % after longer periods at 36° C. Plants exposed for 40 hrs. at 36° C four hours after inoculation, developed

42 % fewer lesions than those at 21 ° C. There was no reduction in similar tests when the plants were exposed at 10 ° C instead of 21 ° C, suggesting that only high temperature in post inoculation treatment influenced susceptibility.

Young plants of *P. floridana* (12 developed leaves) showed small differences in susceptibility if exposed at different temperatures before inoculation. There were 13 %—18 % fewer lesions at 10 ° C and 36 ° C than at 21 ° C.

At 20 ° C dark periods of 24 hrs. or more before inoculation the susceptibility of *P. floridana* increased by about 100 %. A dark period of only 10 hrs. before inoculation had little effect. The susceptibility of plants in the dark was reduced by turning on a battery of Osram-fluorescent tubes for 5, 15 or 60 mins., 12, or particularly 6 hrs. before inoculation. A light period of 1 hr. greatly reduced susceptibility at wave lengths of 4000—5000 Å, but had only a small effect at 6000 Å. The susceptibility of *P. floridana* does not seem to be decisively influenced by the photosynthetic products; both red and blue light are photosynthetically efficient, but only blue light influences susceptibility.

Sap from healthy leaves of *N. tabacum, P. floridana* and potato (var. Erdgold) which had been kept for 24—72 hrs. at 4 °, 10 °, 16 °, 21 °, or 36 ° C, in light or in darkness, was mixed with infective sap and inoculated to test plants. As compared with the number of lesions produced by the mixture containing sap from plants stored at 21 ° C, the reduction with mixtures containing sap from plants stored at 4 °, 10 ° and 36 ° C was significant at 0,1 % level; with sap from plants stored at 16 ° C the reduction was significant at 1 % level. The mixture of the inoculum with sap from healthy plants of *P. floridana* and *N. tabacum* which had been stored at 21 ° or 30 ° C resulted in the same number of lesions as if the inoculum had been diluted with water. The susceptibility of plants kept at 4 °, 10 °, 16 °, or 36 ° C before inoculation and the inhibitory effect of the sap of these plants are correlated (Fig. 3 & 7), it is therefore included that inhibitors are produced at low or high temperatures. These inhibitors seem to influence the establishment of virus in the host cells rather than the virus in vitro, as shown by the following facts: The inhibitory effect is independent of the concentration of the infectious sap. The period of operation of the inhibitor in vitro had no influence on the virus. There was a full inhibitory effect after separate inoculation of virus and inhibitor. There was a greater inhibitory effect when older leaves or plants were inoculated as compared with the inoculation of young leaves or plants. The inoculation of the same mixture or virus and inhibitor occasionally had a low inhibitory effect on equally old plants. Sap from plants which had been held at 10 ° C did not reduce the number of lesions when inoculated 20 hrs. after inoculation of the virus.

The inhibitory effect did not occur when the sap was heated to 70 °—80 ° C for 10 min. After 1 hr. high speed centrifugation at 15 000, 25 000 and 40 000 r. p. m. the inhibitor remained in the supernatant liquid.

Sap of *Physalis floridana* plants which had been stored at 20 ° C and day light reduced the number of lesions as compared with sap from plants at 20 ° C and darkness.

Literaturverzeichnis

Bancroft, J. B., and G. S. Pound, 1954: Effect of air temperature on multiplication of tobacco mosaic virus in tobacco. Phytopathology **44**, 481—482.

Bawden, F. C., 1950: Plant viruses and virus diseases. Chronica Botanica Co., Waltham (USA), 3. Aufl.

— —, 1952: Plant pathology department (Viruses and virus diseases). In: Rothamsted Exp. Stat. Rep. 1951, 76—88.

— —, 1954: Inhibitors and plant viruses. In: Advances in virus research **2**, 31—57.

— —, and G. C. Freeman, 1952: The nature and behaviour of inhibitors of plant viruses produced by *Trichothecium roseum* Link. J. gen. Microbiol. **7**, 154—168.

— —, and N. W. Pirie, 1936: Experiments on the chemical behaviour of potato virus X. Brit. J. Exp. Pathol. **17**, 64—74.

— —, and — —, 1945: Further studies on the purification and properties of a virus causing tobacco necrosis. Brit. J. Exp. Pathol. **26**, 277—285.

— —, and — —, 1952: Physiology of virus diseases. Ann. Rev. Plant Physiol. **3**, 171 bis 188.

— —, and F. M. Roberts, 1947: The influence of light intensity on the susceptibility of plants to certain viruses. Ann. appl. Biol. **34**, 286—296.

— —, and — —, 1948: Photosynthesis and predisposition of plants to infection with certain viruses. Ann. appl. Biol. **35**, 418—428.

Beemster, A. B. R., 1954: Virustransport innerhalb der Kartoffelpflanze. Mitt. Biol. Bundesanst. Berl.-Dahlem, H. **80**, 136—144.

Black, L. M., 1939: Inhibition of virus activity by insect juices. Phytopathology **29**, 321—337.

Braun, H., 1952: Die Verhütung des Auftretens von Pflanzenkrankheiten und -schädlingen (Hygiene). Hdb. Pflanzenkrankh. Paul Parey, Berlin und Hamburg, **6**, 26—143.

Chester, K. S., 1934: Specific quantitative neutralization of the viruses of tobacco mosaic, tobacco ring spot, and cucumber mosaic by immune sera. Phytopathology **24**, 1180—1202.

Commoner, B., M. Yamada, S. D. Rodenberg, T. Y. Wang and E. J. Basler, 1953: The proteins synthesized in tissue infected with tobacco mosaic virus. Science **118**, 529—534.

Dedonder, R., 1950: Les glucides du topinambour II. Reports entre la composition glucidique des tubercules du topinambour et les produits d'hydrolyse de l'uniluie. C. R. Acad. Sci., Paris **230**, 997.

Diercks, R., 1953: Der Einfluß der Mineralsalzernährung auf Wanderungs- und Ausbreitungsgeschwindigkeit des X-Virus in Kartoffelpflanzen. Z. Pflanzenbau u. -schutz **4**, 252—288.

Fisher, R. B., D. S. Parson and G. A. Morrison, 1948: Quantitative paper chromatography. Nature (Lond.) **161**, 764.

Fulton, R. W., 1941: The behaviour of certain viruses in plant roots. Phytopathology **31**, 575—598.

Gendron, Y., and B. Kassanis, 1954: The importance of the host species in determining the action of virus inhibitors. Ann. appl. Biol. **41**, 183—188.

Gupta, B. M., and W. C. Price, 1950: Production of plant virus inhibitors by fungi. Phytopathology **40**, 642—652.

— —, and — —, 1952: Mechanism of inhibition of plant virus infection by fungal growth product. Phytopathology **42**, 45—51.

Hitchborn, J. H., 1954: Studies in the susceptibility of plants to viruses. Diss. Univ. Cambridge.

HOUGAS, R. W., 1951: Factors affecting sap transmission of the potato yellow-dwarf virus. Phytopathology **41**, 483—493.

HUMPHRIES, E. C., and B. KASSANIS, 1955: Effects of darkness on the constitution of tobacco leaves and susceptibility to virus infection. Ann. appl. Biol. **43**, 686—695.

JOHNSON, J., 1941: Chemical inactivation and the reactivation of a plant virus. Phytopathology **31**, 679—701.

KALMUS, H., and B. KASSANIS, 1944: Reduction by carbon dioxide of susceptibility of beans to tobacco necrosis viruses. Nature (Lond.) **154**, 641—642.

KASSANIS, B., 1952: Some effects of high temperature on the susceptibility of plants to infection with viruses. Ann. appl. Biol. **39**, 358—369.

KLECZKOWSKI, A., 1949: The transformation of local lesion counts for statistical analysis. Ann. appl. Biol. **36**, 139—152.

KÖHLER, E., 1954: Viren. In: Fortschr. Bot. **15**, 476—512.

— —, 1955: Viren. In: Fortschr. Bot. **17**, 819—855.

— —, 1956: Über die Ausbreitung von Mosaikviren in der Tabakpflanze I. Das Verhalten der Kartoffelviren X und Y. Phytopath. Z. **26**, 147—160.

KOPETZ, L. M., und O. STEINECK, 1949: Vergleichende Untersuchungen zur voreilenden Pflanzgutwertbestimmung von Kartoffeln. — Der hydroponische Stecklingstest (Augenstecklingsprüfung und der Wurzelbildtest). Bodenkultur **4**, 487—505.

LORING, H. S., 1942: The reversible inactivation of tobacco mosaic virus by crystalline ribonuclease. J. gen. Physiol. **25**, 497—505.

MATTHEWS, R. E. F., 1953 a: Factors affecting the production of local lesions by plant viruses. I. The effect of time of day of inoculation. Ann. appl. Biol. **40**, 377—383.

— —, 1953 b: Factors affecting the production of local lesions by plant viruses. II. Some effects of light, darkness and temperature. Ann. appl. Biol. **40**, 556—565.

NIENHAUS, F., 1956: Über den Einfluß niedriger und hoher Temperatur auf die Empfänglichkeit der Pflanze für das Kartoffel-Y-Virus. Naturwissenschaften **43**, 63—64.

POUND, G. S., 1952: Relation of air temperature and virus concentration to mosaic resistance in cabbage. Phytopathology **42**, 83—88.

— —, and P. C. CHEO, 1952: Studies on resistance to cucumber virus 1 in spinach. Phytopathology **42**, 301—306.

— —, and KATIE HELMS, 1955: Effects of temperature on multiplication of potato virus X in *Nicotiana* species. Phytopathology **45**, 493—499.

ROSS, A. F., 1948: Local lesions with potato virus Y. Phytopathology **38**, 930—932.

— —, 1953: *Physalis floridana* as a local lesion test plant for potato virus Y. Phytopathology **43**, 1—8.

RUGE, U., 1954: Anzucht von Pflanzen bei ausschließlich künstlicher Beleuchtung. Z. Bot. **42**, 31—62.

SCHRAMM, G., 1954: Die Biochemie der Viren. Springer-Verlag Berl., Gött., Heidelbg. 276 S.

STAHMANN, M. A., L. H. GRAF, E. L. PATTERSON, J. C. WALKER and D. W. WATSON, 1951: The inhibition of tobacco mosaic virus by synthetic lysine polypeptides. J. Biol. Chem. **189**, 45—52.

STANLEY, W. M., 1934: Chemical studies on the virus of tobacco mosaic. I. Some effects of trypsin. Phytopathology **24**, 1055—1085.

TAKAHASHI, W. N., 1946: Properties of a virus inactivator from yeast. Science **104**, 377.

— —, and M. ISHII, 1953: A macromolecular protein associated with tobacco mosaic virus infection: Its isolation and properties. Amer. J. Bot. 40, 85—90.

THOMSON, A. D., 1956: Heat treatment and tissue culture as a means of freeing potatoes from virus Y. Nature **177**, 709.

THORNBERRY, H. H., 1935: Effect of phosphate buffers on infectivity of tobacco-mosaic virus. Phytopathology **25**, 618—627.

Tinsley, T. W., 1953: The effect of varying the water supply of plants on their susceptibility to infection with viruses. Ann. appl. Biol. 40, 750—760.

Ullrich, H., 1952: Kunstlicht und Pflanzenkultur. Vortrag: Mitgl.-Vers. v. Freunden der Techn. Hochsch. Stuttgart, 22. 10. 1952.

Weathers, L. G., and G. S. Pound, 1954: Host nutrition in relation to multiplication to tobacco mosaic virus in tobacco. Phytopathology 44, 74—80.

Weber, Erna, 1956: Grundriß der Biologischen Statistik für Naturwissenschaftler, Landwirte und Mediziner. Veb. Gustav Fischer Verlag, Jena, 2. Aufl. 456 S.

Weintraub, M., and J. D. Gilpatrick, 1952: An inhibitor in a new host of tobacco ring spot virus. Can. J. Bot. 30, 549—557.

Whitehead, T., T. P. McIntosh and W. M. Findlay, 1953: The potato in health and disease. Oliver & Boyd, Edinburgh, London, 3rd. Ed.

Wiltshire, G. H., 1956 a: The effect of darkening on the susceptibility of plants to infection with viruses. I. Relation to changes in some organic acids in the french bean. Ann. appl. Biol. 44, 233—248.

— —, 1956 b: The effect of darkening on the susceptibility of plants to infection with viruses. II. Relation to changes in ascorbic acid content of french bean and tobacco. Ann. appl. Biol. 44, 249—255.

Zech, H., 1952: Untersuchungen über den Infektionsvorgang und die Wanderung des Tabakmosaikvirus im Pflanzenkörper. Planta 40, 461—514.

Aus dem Phytopathologischen Institut der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Keimfähigkeit und Lebensdauer des Pollens von Kartoffel-X-Virus-infizierter *Nicotiana acuminata* (Grah.) Hook.

Von

CHRISTIANE SCHADE

Mit 2 Abbildungen

Einleitung

Zahlreiche Viruskrankheiten rufen an den Blüten frühzeitig infizierter Pflanzen pathologische Erscheinungen hervor. Außer morphologischen Veränderungen der Blütenorgane oder Abweichungen von der normalen Blütenfarbe können Störungen der Reduktionsteilung in den Pollen- und Embryosackmutterzellen erfolgen, die partielle Sterilität hervorrufen (KOSTOFF 1933, CALDWELL 1952, WILKINSON 1952). Ob diese virusbedingten Anomalien auftreten und in welchem Grade eine Schädigung der Blüte erfolgt, hängt von sehr vielen Faktoren ab. Wichtig ist naturgemäß das Entwicklungsstadium der Pflanze, in dem die Infektion erfolgt. Von Bedeutung kann auch die Dauer der Viruseinwirkung sein, d. h. die Zeitspanne zwischen Infektion und Blühtermin, in der das Virus den Wirtsstoffwechsel beeinflußt. (WATSON, WATSON and HULL 1946, SCHLÖSSER 1951 u. a.).

In den vorliegenden Untersuchungen an Gewächshauspflanzen wurde die Dauer der Viruseinwirkung variiert; das Entwicklungsstadium der Pflanze zur Zeit der Infektion mit dem Kartoffel-X-Virus war dagegen stets das 8- bis 10-Blattstadium. Eine Beeinträchtigung der Fertilität des Pollens durch das X-Virus ist bisher nicht bekannt. Beobachtungen an *Nicotiana acuminata* deuteten jedoch daraufhin, daß eine Schädigung des Pollens durch dieses Virus vorliegen könnte. Die Untersuchungen erstreckten sich in der Hauptsache auf Pollenkeimversuche, Alterungsprüfungen und quantitative Bestimmungen der Fermentaktivität (Amylase und Invertase) des Pollens von X-Virus-infizierten und gesunden Pflanzen.

Material und Methodik

Als Versuchspflanze diente *Nicotiana acuminata* (Grah.) Hook. Jeder Versuch bestand aus 40 Pflanzen, von denen 20 im 8- bis 10-Blatt-Stadium mit dem Kartoffel-X-Virus, Stamm Nr. 11 (Aschersleben) infiziert wurden.

Zur Pollen g e w i n n u n g erfolgte das Sammeln der Antheren kurz vor dem Aufspringen. Nach 24- bis 48stündigem Aufenthalt im Dunkelthermostaten (25 ⁰ C) wurden die Antherenhüllen entfernt und der Pollen, falls nicht sofort verwendet, in Gläsern mit Wattestopfen über angefeuchtetem Kaliumkarbonat (rel. Luftfeuchtigkeit ∼ 50 %) im Exsikkator bei + 2 ⁰ C aufbewahrt (GOLLMICK 1942).

Für die Pollen k e i m u n g wurde im allgemeinen folgendes Substrat verwendet: 3 % Agar, 20 % Saccharose pur. (Merck), 0,01 % Borsäure pur. Bei Pollen, der sechs Monate und älter war, erwies sich der Zusatz von 30 % Saccharose als günstiger (KÜHLWEIN und ANHAEUSSER 1951). Die Expositionszeit für den Pollen in Ringkammerkulturen betrug drei Stunden bei 25 ⁰ C. Anschließend erfolgte die Fixierung des keimenden Pollens über Formalindampf (eine Minute), um die Auszählung nach konstanter Keimzeit vornehmen zu können. Die Herstellung der Lösungen geschah mit aqua bidest., die Reinigung der Glassachen mit Chromschwefelsäure.

Die G r ö ß e n m e s s u n g e n erfolgten an lufttrockenem Pollen in Canadabalsam. Nach Messung des größten und kleinsten Durchmessers der ellipsoidischen Pollenkörner wurde der Quotient berechnet, da nur dieser einen exakten Vergleich zwischen Pollenkorngrößen erlaubt (SCHOCH-BODMER 1938). Gemessen wurden je 1000 Pollenkörner der infizierten und gesunden Pflanzen.

Der Anteil der tauben und geschrumpften Pollenkörner wurde nach Anfärbung mit Karmin-Essigsäure ermittelt (REMY 1953). Normal entwickelte Körner werden mit KE kräftig gefärbt, die anomalen bleiben fast farblos. Zur Auszählung kamen je 10 000 Körner aus Pollenmischproben der infizierten und gesunden Pflanzen.

Da die Fermentaktivität durch verschiedene Außenfaktoren beeinflußt wird, war für die q u a n t i t a t i v e n Aktivitätsbestimmungen folgendes zu berücksichtigen:

1. Es wurde nur Pollen der Hauptachse aus den ersten zwölf Tagen der Blütezeit verwendet, da dieser den höchsten Fermentgehalt besitzt (HAECKEL 1951).
2. Die Pollenernte erfolgte stets zur gleichen Tageszeit (8 Uhr). Bei einigen Pflanzen wurden tagesperiodische Schwankungen der Amylaseaktivität festgestellt (VENTER 1956).
3. Durch die Aufbewahrungsmethode des Pollens wurde der schädigende Einfluß von UV-Licht ausgeschaltet (WERFFT 1951). Die relative Luftfeuchtigkeit wurde mit Hilfe des angefeuchteten K_2CO_3 im Exsikkator konstant gehalten.

Die Herstellung und Behandlung der Fermentsuspensionen und Substrate erfolgte nach der von HAECKEL 1951 beschriebenen Methode mit einigen Änderungen.

Bei den infizierten Pflanzen fiel bedeutend weniger gleichartiges Pollenmaterial an als bei den gesunden Kontrollen, da die Anzahl der Blüten reduziert war. Für jeden Ansatz wurden etwa 10 mg frischer bzw. getrockneter Pollen verwendet. Für die Aktivitätsbestimmungen im frischen, gekeimten Pollen wurden zehn Deckgläser (40 × 40 mm) mit einem dünnen, gleichmäßigen Film von 3 % Agar + 20 % Saccharose überzogen und nach dem Trocknen gewogen (± 0,5 mg). Auf fünf dieser Deckgläser wurde der Pollen innerhalb einer Schablone, deren freie Kreisfläche der lichten Weite einer kleinen Petrischale (⌀ 3,8 cm) entsprach, aufgestäubt und die Deckgläser + Agar + Pollen noch einmal gewogen, um das Frischgewicht des aufgetragenen Pollens zu ermitteln. Darauf erfolgte das Aufkleben der Deckgläser mit 2%igem Agar auf kleine Petrischalen, deren Boden mit 3%iger Zuckerlösung bedeckt war. Zur Bestimmung des Blindwertes wurden die restlichen fünf Deckgläser ohne Pollen auf Petrischalen geklebt und anschließend den gleichen Bedingungen ausgesetzt wie die Deckgläser mit Pollen. Nach zwei Stunden im Thermostaten (25 ⁰ C) begann der Pollen zu keimen. Um ihn quantitativ für die Analyse auszunutzen, wurden die Deckgläser mit Pollen und Agar grob zerkleinert und das ganze quantitativ in 100-ccm-Erlenmeyerkölbchen übergespült.

Für die Bestimmungen der Fermentaktivität im getrockneten, nicht gekeimten Pollen wurde lufttrockener Pollen im Achatmörser fein zerrieben, die Zerkleinerung der Pollenkörner mikroskopisch kontrolliert und die Trocknung im Vakuumexsikkator über Phosphorpentoxyd bis zur Gewichtskonstanz (drei Stunden) vorgenommen.

Zur Bestimmung der Amylaseaktivität wurde der Pollen mit 1/10 n Acetatpuffer pH 5,8 quantitativ in einen Kolben übergespült und 30 min auf 37 ⁰ C vorgewärmt. Der optimale pH-Wert für die Amylase liegt nach Haeckel zwischen 5,6 und 6,0. Als Substrat diente 2⁰/oige Stärkelösung nach Sulkowski (Merck), die nach Erwärmung (30 min 37 ⁰ C) mit der Fermentsuspension 1 : 1 gemischt wurde. Die Reaktion lief vier Stunden bei 37 ⁰ C. Nach Sistierung mit 1/5 n NaOH und Abkühlen auf die Temperatur von fließendem Leitungswasser folgte die Bestimmung der reduzierenden Zucker nach Hagedorn—Jensen. Die Umrechnung auf Maltose geschah ohne Rücksicht auf die reduzierenden Dextrine und die unter Umständen entstehende Glukose nach Weise und v. Brand.

Zur Bestimmung der Invertaseaktivität erfolgte der Ansatz der Fermentsuspension mit 1/10 n Acetatpuffer pH 4,6. Der optimale pH-Wert für die Invertase liegt nach Michaelis und Davidsohn bei pH 4,5. Nach Vorwärmen der Fermentsuspension auf 30 ⁰ C 30 min lang wurde sie mit dem gleichen Volumen des Substrats versetzt. Dieses bestand aus einer 10⁰/oigen Saccharoselösung (p. a. Merck), die ebensolange erwärmt worden war. Nach einer Reaktionszeit von 30 min bei 30 ⁰ C und Sistierung wie oben wurde die gebildete Glukosemenge nach Hagedorn—Jensen bestimmt.

Die Spaltprodukte sind in mg Maltose bzw. in mg Glukose angegeben und beziehen sich jeweils auf 1 mg Trockensubstanz Pollen. Jede Aktivitätsmessung samt dem dazugehörigen Blindwert wurde fünfmal (mit je zwei Paralleltitrationen) ausgeführt und aus den zehn erhaltenen Aktivitätswerten der Mittelwert errechnet. Die Schwankungen in den absoluten Zahlenwerten der Analysen von Pollenproben verschiedenen Datums waren beträchtlich, so daß es keinen Sinn hatte, den Mittelwert aus allen Analysen zu bestimmen. Die Unterschiede zwischen den Aktivitätswerten des gleichaltrigen Pollens von gesunden und infizierten Pflanzen blieben jedoch erhalten. Die Fehlergrenze bei den Zuckerbestimmungen lag bei 10 %.

Pollenkeimversuche

Um die Dauer der Viruseinwirkung auf die Pflanze möglichst stark zu variieren, wurde *Nicotiana acuminata* im Herbst 1953 und Frühjahr 1954 mit entsprechender Wiederholung 54/55 im Gewächshaus angezogen. Die Daten für Aussaat, Infektion und Blühbeginn des ersten Versuchsjahres sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Aus ihnen geht hervor, daß die Pflanzen des ersten Versuchs (Herbstaussaat) unter den gegebenen Gewächshausverhältnissen nicht mehr im Aussaatjahr blühten. Sie überwinterten als gestauchte, buschige Pflanzen (Abb. 1), deren Blütezeit im Mai begann.

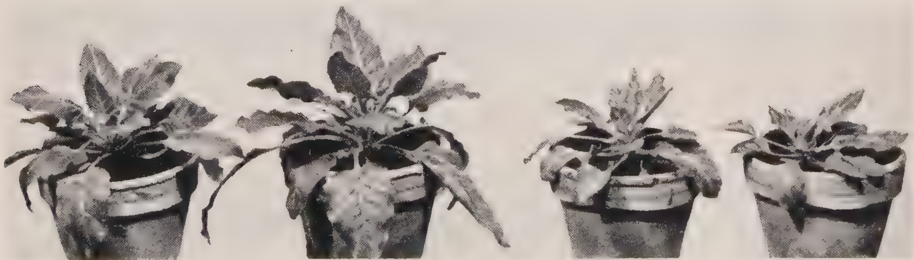


Abb. 1. Links gesunde, rechts X-Virus-infizierte *Nicotiana acuminata* (Grah.) Hook. Infektion am 25. September 1953, Aufnahme am 7. Februar 1954

Tabelle 1

Aussaat-, Infektions- und Blühtermine von *N. acuminata* (Grah.) Hook. im Gewächshaus

Versuch	Aussaat-datum	Infektions-datum	Blühbeginn
I. Versuch (Herbstaussaat)	12. 8. 53	25. 9. 53	18. 5. 54
II. Versuch (Frühjahrsaussaat)	4. 3. 54	17. 4. 54	29. 6. 54

Die Zeitspanne zwischen Virusinfektion und Blüte betrug bei Versuch I (Herbstaussaat) 236 Tage, bei Versuch II (Frühjahrsaussaat) 74 Tage.

Im Verlauf der Blütezeit zeigten sich bei den infizierten Pflanzen der beiden Versuche Unterschiede im Schädigungsgrad der Blüte. Zu Beginn der Blühperiode war die Blütenkrone bei allen infizierten Pflanzen verkleinert

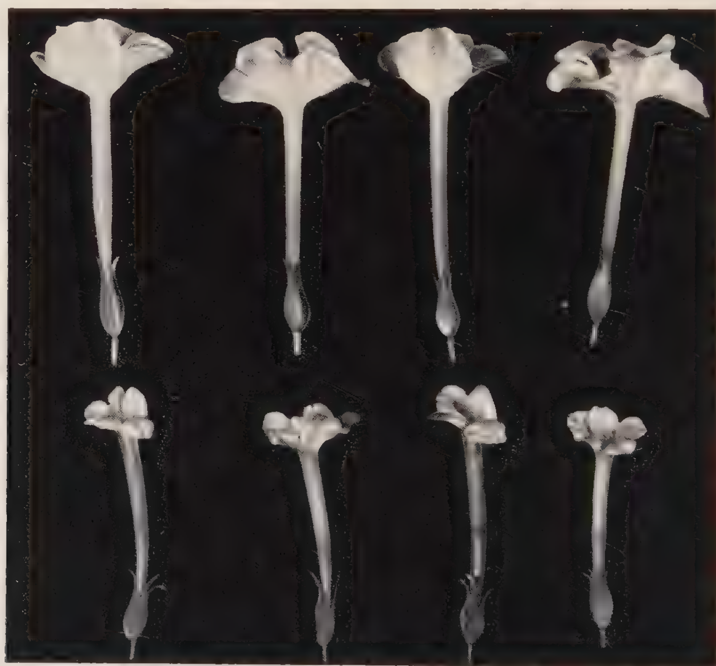


Abb. 2. Oben Blüten gesunder, unten Blüten X-Virus-infizierter *Nicotiana acuminata* (Grah.) Hook.

und häufig unsymmetrisch (Abb. 2). In Versuch II (Frühjahrsaussaat) wurden jedoch die Blütensymptome allmählich schwächer und nach 14—16tägiger Blühzeit wiesen die sich öffnenden Blüten keine morphologischen Unterschiede mehr im Vergleich zu den Kontrollen auf. In Versuch I (Herbstaussaat) dagegen zeigten die Blüten 16 Tage nach Blühbeginn die gleichen Ano-

malien wie am Anfang der Blütezeit. Hier lag also offensichtlich eine stärkere Schädigung der Pflanzen vor.

Die Keimprüfungen mit Pollen von X-infizierten Pflanzen der Herbst- und Frühjahrsaussaat zeigten den Unterschied noch deutlicher. Die Keimversuche wurden mit Pollenmischproben von Blüten der Hauptachse aus den ersten 12 Tagen nach Blühbeginn durchgeführt. Ausgezählt wurden gekeimte, geplatzte, und gequollene Körner. Jede Keimprüfung erfolgte in dreifacher Wiederholung, pro Versuch wurden mindestens 300 Korn gezählt. Unter den gekeimten Körnern kamen nur einzeln liegende zur Auszählung, um eine gegenseitige Beeinflussung auszuschalten. Die Vereinzelung der Pollenkörner geschah nach dem Aufstäuben auf den Zuckeragar mit Hilfe eines scharfen Luftstrahls. Die Ergebnisse der Keimprüfungen gibt Tabelle 2 wieder.

Tabelle 2

Keimung des Pollens von X-Virus-infizierten und gesunden *N. acuminata* (Grah.) Hook.

Pollen X-Virus-infizierter Pflanzen			Pollen gesunder Pflanzen		
% gekeimt	% geplatzt	% gequollen	% gekeimt	% geplatzt	% gequollen
Versuch I (Herbstaussaat)					
53,3*	5,8	**40,9**	81,4	6,3	12,3
Versuch II (Frühjahrsaussaat)					
80,6	5,5	13,9	79,4	6,1	14,5

*) Die Zahlen stellen Mittelwerte aus 30 Keimprüfungen dar. Pollen aus zehn verschiedenen Sammelproben wurde in dreifacher Wiederholung geprüft.

Es zeigt sich, daß bei Herbstaussaat die Keimfähigkeit des Pollens X-Virus-infizierter Pflanzen um etwa 27 % geringer ist. Die Differenz ergibt sich aus dem erhöhten Anteil der gequollenen Körner, deren Prozentsatz 40,9 beträgt, während er in den übrigen Keimprüfungen zwischen 12,3 und 14,5 % liegt. Versuche, die quellenden, aber nicht keimenden Pollenkörner durch veränderte physiologische Bedingungen zur Keimung anzuregen, schlugen fehl. Weder ein verlängerter Aufenthalt im Thermostaten (25 ° C) bis zu 6 Std., noch die Erhöhung der Zuckerkonzentration im Keimsubstrat oder die Steigerung des Borsäurezusatzes bis zu 0,1 % führten zu anderen Ergebnissen.

Aus den Untersuchungen von Valleau (1932, 1941) ist bekannt, daß verschiedene Stämme des Tabakringfleckenvirus bei *Nicotiana tabacum* partielle Pollensterilität hervorrufen. Die Pollenentwicklung scheint bis zur Trennung der Tetraden normal zu verlaufen, doch zeigt sich in den reifen Antheren, daß der Pollen größtenteils kleiner als normal und steril ist. Das Tabakringfleckenvirus gehört zu den Viren, die im Pollen nachzuweisen sind.

VALLEAU hält es für wahrscheinlich, daß die Polleninfektion die Sterilität verursacht. Bei dem Kartoffel-X-Virus gelingt dagegen der Virusnachweis im Pollen nicht (GRATIA et MANIL 1936 u. a.). Anscheinend gilt dies für alle nicht samenübertragbaren Viren (BENNETT 1940, BAWDEN 1950). BAWDEN vermutet, daß das Virus vielleicht im Zusammenhang mit der Reduktionsteilung im Pollen inaktiviert wird. Auf jeden Fall war in unseren Versuchen die Möglichkeit einer Beeinflussung der Pollenkorngröße nicht ausgeschlossen.

Außerdem sollte der Anteil der abortierten Pollenkörner von infizierten und gesunden Pflanzen ermittelt werden, da diese in den ungefärbten Pollenkeimkulturen nicht mit Sicherheit erfaßt werden konnten. Ein Vergleich der Pollenkorngröße bei infizierten und gesunden Pflanzen, sowie die Bestimmung des Anteils von abortiertem Pollen war außerdem wichtig für den späteren quantitativen Vergleich der Fermentaktivität.

Die Größenmessungen der ellipsoidischen Pollenkörner von gesunden und infizierten Pflanzen ergaben in Versuch I und II nach Ermittlung der Quotienten der größten und kleinsten Durchmesser mit ihren mittleren Fehlern keine gesicherten Unterschiede. Auch der Prozentsatz des abortierten Pollens war bei infizierten und gesunden Pflanzen einer Aussaat derselbe.

Nachdem sich die Übereinstimmung der Pollenkorngröße bei infizierten und gesunden Pflanzen ergeben hatte, war die Annahme berechtigt, daß die Ursache für die erhöhte Anzahl des gequollenen, aber nicht keimenden Pollens infizierter Pflanzen in einer verringerten Permeabilität der Pollenmembran oder kolloidchemischen Veränderungen des Plasmas zu suchen sei. Derartige Erscheinungen treten bei gealtertem Pollen artspezifisch nach längerer oder kürzerer Lagerung auf (KÜHLWEIN und ANHAEUSSER 1951, HAECKEL 1951). Da sich Unterschiede in der Keimfähigkeit des Pollens nur bei infizierten Pflanzen der Herbstaussaat gezeigt hatten, wurde der Pollen dieser Pflanzen auf seine Keimfähigkeit nach Lagerung unter optimalen Bedingungen innerhalb eines Jahres geprüft. Von den im Pollen nachweisbaren Viren ist bekannt, daß die Schädigung einzelner Blüten starke Unterschiede aufweist (VALLEAU 1932), anscheinend in Abhängigkeit von der zufälligen Verteilung des Virus in den Tetraden. Um bei der Alterungsprüfung auch die Schädigung einzelner Blüten beurteilen zu können, wurde der Pollen — blütenweise getrennt — aus Blüten der Hauptachse geerntet, die sich in etwa gleicher Höhe der Infloreszenzen befanden. Die Pollenkeimung von 15 Einzelblüten wurde 1953/54 im Laufe eines Jahres fünfmal untersucht und 1954/55 mit 10 Einzelblüten in gleicher Weise wiederholt. Die Aufbewahrung des Pollens geschah wie gewöhnlich über K_2CO_3 bei + 2° C (~ 50 % rel. Luftfeuchtigkeit). Der Pollen einer Blüte wurde bei jeder Keimprüfung in dreifacher Wiederholung angesetzt, mindestens 300 Korn wurden ausgezählt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 3.

Die Kontrolle wurde an Pollen von 15 Einzelblüten gesunder Pflanzen vorgenommen. Für diese ist in der Tabelle nur der Durchschnittswert jeder Keimprüfung angegeben, da der Pollen von Einzelblüten gesunder Pflanzen

Tabelle 3

Keimprozente des Pollens einzelner Blüten von X-Virus-infizierten Tabakpflanzen (*N. acuminata* [Grah.] Hook.) im Laufe eines Jahres

Blüte	Keimprozente am:				
	3. VI. 1953	3. IX. 1953	3. XII. 1953	3. III. 1954	3. VI. 1954
X_1	27,6	—	—	—	—
X_2	58,8	41,0	40,6	43,9	31,3
X_3	31,5	1,8	—	—	—
X_4	37,0	—	—	—	—
X_5	40,7	—	—	—	—
X_6	58,6	38,4	28,9	34,3	32,4
X_7	69,1	49,5	36,9	38,9	18,5
X_8	46,1	15,6	—	2,3	—
X_9	63,4	39,4	31,2	18,7	10,9
X_{10}	47,2	14,3	9,4	—	—
X_{11}	59,6	36,4	33,3	—	—
X_{12}	69,3	28,3	—	—	—
X_{13}	62,5	15,7	14,4	15,6	1,4
X_{14}	59,9	43,7	31,2	43,4	34,6
X_{15}	38,4	7,0	—	1,7	—
⌀ X_{1-15}	51,3	22,1	15,1	13,3	8,6
⌀ von 15 Einzelblüten der Kontrolle (gesund)	79,6	71,3	68,6	69,7	67,1

sehr geringe Differenzen in der Keimfähigkeit aufwies. Bei den infizierten Pflanzen zeigt sich die unterschiedliche Schädigung des Pollens einzelner Blüten deutlich, die sich bei der Wiederholung des Versuchs 1954/55 bestätigte. Der durchschnittliche Verlust der Keimfähigkeit ist nach dem ersten Vierteljahr der Lagerung am höchsten. Er beträgt 57 %, nach einem Jahre 83,2 % von der Keimfähigkeit des frischen Pollens. Bei der Kontrolle hat der Pollen nach einem Jahre nur 16 % der ursprünglichen Keimfähigkeit verloren. Am auffallendsten ist das völlige Versagen der Pollenkeimung bei einzelnen Blüten der infizierten Pflanzen innerhalb kurzer Zeit. Nach 3 Monaten keimte der Pollen von 3 Blüten nicht mehr, nach 12 Monaten waren es 9 von 15 Blüten, deren Pollen die Keimfähigkeit verloren hatte. Bei den Kontrollen hatte der Pollen jeder Blüte nach einem Jahre noch etwa 84 % seiner ursprünglichen Keimfähigkeit.

Aus den Versuchen mit gelagertem Pollen infizierter Pflanzen geht hervor, daß seine Alterung trotz optimaler Lagerungsbedingungen viel schneller erfolgt als die des Pollens gesunder Pflanzen.

Die Erfahrung, daß gealterter Pollen höhere Zuckerkonzentrationen verlangt (Kühlwein 1937, Kühlwein und Anhaeusser 1951), wurde bei allen Keimprüfungen ab Dezember berücksichtigt. Haeckel (1951) hat gealterten Pollen von *Digitalis purpurea* durch verzögerte Quellung zur Keimung brin-

gen können. Die verlangsamte Quellung ist dadurch zu erreichen, daß der Agar ohne Zuckerzusatz verwendet wird, stattdessen befindet sich eine Zuckerlösung auf dem Boden der feuchten Kammer. Versuche in dieser Richtung mit dem ein Jahr alten Pollen von *Nicotiana acuminata* verliefen negativ.

HAECKEL hat ferner bei alterndem Pollen von *Nicotiana tabacum* und *Digitalis purpurea* festgestellt, daß die Fermentaktivität durch Alterung mit dem sinkenden Wassergehalt abnahm. Die Fermentaktivität ist jedoch nicht der Abnahme des Wassergehalts proportional. In unseren Versuchen traten schon bei frischem Pollen der infizierten Pflanzen (Herbstaussaat) ähnliche Erscheinungen wie bei natürlich gealtertem auf, die wahrscheinlich auf kolloidchemische Veränderungen des Plasmas zurückzuführen sind. Außerdem hatten die Keimversuche mit gelagertem Pollen von X-infizierten Pflanzen die beschleunigte Alterung im Vergleich zur Kontrolle gezeigt. Quantitative Bestimmungen sollten klären, ob bei dem Pollen von infizierten und gesunden Pflanzen unterschiedliche Fermentaktivitäten vorliegen.

Fermentbestimmungen

Um etwaige Unterschiede in der Fermentaktivität des trocknen Pollens bzw. Differenzen der Fermentaktivität bei der Keimung zu erfassen, wurden die Amylase- und Invertasebestimmungen an folgendem Material gleichen Alters durchgeführt:

1. Getrockneter Pollen gesunder Pflanzen
   Getrockneter Pollen X-Virus-infizierter Pflanzen
2. Gekeimter Pollen gesunder Pflanzen
   Gekeimter Pollen X-Virus-infizierter Pflanzen

Beide Fermente sind für die Pollenkeimung von Bedeutung. Obgleich der Pollen von *Nicotiana tabacum* keine Stärke enthält, hat HAECKEL (1951) Diastase nachweisen können. Das gleiche gilt für *Nicotiana acuminata*. BRANSCHEIDT (1930) hat bei stärkefreiem Pollen von *Lilium tigrinum*, der in reiner Zuckerlösung nicht keimte, bei Zusatz von Diastase 80%ige Keimung erhalten. Die Bedeutung der Diastase besteht also nicht allein im fermentativen Abbau der Stärke.

Durch die Tätigkeit der Invertase entstehen nach den Untersuchungen von HAECKEL (1951) die Monosaccharide, durch deren weiteren enzymatischen Abbau die Energie für das Wachstum geliefert wird. Tabelle 4 gibt die Amylase- und Invertaseaktivität des Pollens von X-Virus-infizierten und gesunden Tabakpflanzen wieder.

Es zeigte sich, daß die Anfangsaktivität der beiden Fermente im getrockneten Pollen von infizierten und gesunden Pflanzen geringe Differenzen aufwies. Stärkere Unterschiede waren in der Aktivitätssteigerung der Amylase bei der Keimung festzustellen. Diese betrug bei dem Pollen der infizierten

Pflanzen 35 % der Anfangsaktivität, bei dem Pollen der Kontrolle 131 %. Die Zunahme der Invertaseaktivität während des Keimungsprozesses liegt für die infizierten Pflanzen um 15 % niedriger als bei den Kontrollen.

Tabelle 4

Amylase- und Invertaseaktivität des Pollens von X-Virus-infizierten und gesunden Pflanzen (*Nicotiana acuminata* [Grah.] Hook.)

	Amylaseaktivität in mg Maltose nach 4 Std.		Aktivitätssteigerung in %	Invertaseaktivität in mg Glukose nach 30 min		Aktivitätssteigerung in %
	trockner Pollen	gekeimter Pollen		trockner Pollen	gekeimter Pollen	
X-infiziert	0,223	0,301	35	1,191	2,084	75
gesund	0,319	0,736	131	1,367	2,595	90

Besprechung der Versuchsergebnisse

Die unter bestimmten Versuchsbedingungen auftretende partielle Pollensterilität bei X-infizierten Tabakpflanzen ist anscheinend der langdauernden Viruseinwirkung auf die Pflanze zuzuschreiben. Infektionszeitversuche mit der virösen Vergilbungskrankheit der Zuckerrübe unter natürlichen Bedingungen haben gezeigt, daß die Qualitätsminderung der Zuckerrüben abnimmt, je kürzer die Zeitspanne zwischen Infektionstermin und Ernte ist (Watson, Watson and Hull 1946, Schlösser 1951, Lüdecke und Neeb 1955 u. a.). Im Infektionszeitversuch wird der Grad der Schädigung aber in erster Linie vom Entwicklungsstadium der Pflanze, in dem die Infektion erfolgt, beeinflußt (Steudel und Heiling 1954). In unsern Gewächshausversuchen wurden alle Pflanzen im 8- bis 10-Blattstadium infiziert, so daß für die geringere Pollenfertilität der im Herbst infizierten Pflanzen die abnorm lange Viruseinwirkung verantwortlich zu machen ist.

Die eintretende Quellung ohne anschließende Keimung bei dem frischen Pollen der Kartoffel-X-Virus-infizierten Pflanzen gab zu der Vermutung Anlaß, daß es sich um vorzeitige Alterungserscheinungen handele. Dagegen sprach das übereinstimmende Optimum der Keimung für den frischen Pollen der infizierten und gesunden Pflanzen hinsichtlich der Zuckerkonzentration. Nach Kühlwein und Anhaeusser (1951) verschiebt sich das Keimungsoptimum bei Gymnospermenpollen mit zunehmender Alterung zu immer höheren Zuckerkonzentrationen. Sie schreiben diese Erscheinung zum Teil der bei der Alterung abnehmenden Permeabilität der Pollenmembran zu, zum Teil dem gesteigerten Zuckerbedarf, der für die Intensivierung der Atmung einer Zelle im tiefen Ruhezustand erforderlich ist. In unseren Versuchen reagierte der Pollen von infizierten und gesunden Pflanzen bei 30%iger Zuckerkonzentra-

tion erst nach sechsmonatiger Lagerung mit höherer Keimzahl als bei 20 % Zuckerzusatz. Für das negative Ergebnis mit frischem Pollen von infizierten Pflanzen können Strukturunterschiede in der Pollenmembran der beiden Versuchsobjekte verantwortlich sein. Die Atmungsintensität des Pollens der infizierten Pflanzen wurde nicht untersucht.

Eine andere Erscheinung bei natürlich gealtertem Pollen hat HAECKEL (1951) festgestellt. Bei *Nicotiana tabacum* sinkt infolge des abnehmenden Wassergehalts während der Pollenalterung die Phosphataseaktivität. Nach fünf Stunden sind derartige Pollenkörner gequollen, die Zunahme an Phosphataseaktivität ist aber viel geringer als bei gekeimtem Pollen. Die gleichen Verhältnisse zeigten sich in unseren Versuchen für die Amylaseaktivität des Pollens von infizierten Pflanzen. Die Abnahme der Amylaseaktivität im getrockneten Pollen ist gering, im teils gequollenen und teils gekeimten Pollen ist die Aktivitätssteigerung im Vergleich zur Kontrolle sehr viel geringer. Das gleiche gilt, wenn auch in viel geringerem Ausmaß, für die Invertaseaktivität des Pollens infizierter Pflanzen.

Ein Unterschied zu den Ergebnissen von HAECKEL zeigte sich in unseren Versuchen, ein Jahr alten Pollen von infizierten und gesunden Pflanzen durch verzögerte Quellung zur Keimung anzuregen.

Bei *Nicotiana acuminata* gelangen derartige Keimungsversuche mit altem Pollen von infizierten und gesunden Pflanzen nicht. Da auch die Kontrolle mit Hilfe der indirekten Wasseraufnahme keine höheren Keimprozente erreichte, ist die Methode anscheinend nicht für jeden Pollen geeignet.

Gestützt wird die Ansicht, daß die partielle Sterilität des Pollens von infizierten Tabakpflanzen als Folge von Alterungserscheinungen aufzufassen ist, durch die Keimprüfungen mit gelagertem Pollen innerhalb eines Jahres. Die überraschend schnell abnehmende Keimfähigkeit des Pollens infizierter Einzelblüten ist auf kolloidchemische Veränderungen im Plasma zurückzuführen. Obwohl die Quellung anscheinend normal erfolgt, tritt keine Keimung ein.

Das Kartoffel-X-Virus gehört zu den Viren, die nicht im reifen Pollen nachzuweisen sind. Infolgedessen ist eine Beeinträchtigung der Pollenfertilität nicht zu erwarten. Dies bestätigte sich an Pflanzen, die, im Jugendstadium infiziert, dem normalen Ablauf der Vegetationsperiode ausgesetzt waren.

Obwohl der X-Virusnachweis im reifen Pollen nicht gelingt, bildet die unter bestimmten Versuchsbedingungen auftretende partielle Pollensterilität vielleicht einen Hinweis dafür, daß das Virus in das Archespor einzudringen vermag. Ohne eine Polleninfektion ist die Beeinflussung des Kolloidzustandes nicht denkbar. Über zur Zeit laufende Versuche zum Virusnachweis im Pollen soll später berichtet werden.

Zusammenfassung

Im Verlauf der normalen Vegetationsperiode von *Nicotiana acuminata* hat das Kartoffel-X-Virus keinen Einfluß auf die Fertilität des Pollens.

Bei extrem langer Einwirkungszeit dieses Virus auf *Nicotiana acuminata* (236 Tage) tritt partielle Sterilität auf. Der Schädigungsgrad der Blüten ist sehr unterschiedlich. Die Alterung des Pollens der geschädigten Blüten erfolgt bedeutend schneller als normalerweise. Bei der Keimung des frischen Pollens ist die Steigerung der Amylaseaktivität um 96 % geringer als bei dem Pollen gesunder Pflanzen. Die Zunahme der Invertaseaktivität bei der Pollenkeimung liegt nur 15 % unter derjenigen der Kontrollen.

Literaturverzeichnis

Bawden, F. C., 1950: Plant viruses and virus diseases. Waltham, Mass.

Bennett, C. W., 1940: The relation of viruses to plant tissues. Bot. rev. **6**, 427—473.

Branscheidt, P., 1930: Zur Physiologie der Pollenkeimung und ihrer experimentellen Beeinflussung. Planta **11**, 368—456.

Caldwell, J., 1952: Some effects of a plant virus on nuclear division. Ann. appl. biol. **39**, 98—102.

Gollmick, F., 1942: Über die Lebensdauer des Rebenpollens. Angew. Bot. **24**, 221—232.

Gratia, A., et P. Manil, 1936: Pourquoi le virus de la mosaique du tabac et le virus X de la pomme de terre ne passent-ils pas á la decendance par les graines? C. r. soc. biol., Paris **123**, 509—510.

Haeckel, A., 1951: Beitrag zur Kenntnis der Pollenfermente. Planta **39**, 431—459.

Hagedorn, H. C., und B. N. Jensen, 1923: Zur Mikrobestimmung des Blutzuckers mittels Ferricyanid. Biochem. Z. **135**, 46—58.

Kostoff, D., 1933: A contribution to the sterility and irregularities in the meiotic process caused by virus diseases. Genetica **15**, 103—114.

Kühlwein, H., 1937: Zur Physiologie der Pollenkeimung, insbesondere der Frage nach dem Befruchtungsverzug bei Gymnospermen. Beih. bot. Zbl. **57**, Abt. A, 37—104.

— —, und W. Anhaeusser, 1951: Veränderungen des Gymnospermenpollens durch Lagerung. Planta **39**, 476—479.

Lüdecke, H., und O. Neeb, 1955: Über die Beziehungen zwischen Infektionszeitpunkt und Schädigungsgrad bei der virösen Vergilbungskrankheit der Zuckerrübe. Zucker **8**, 259—266.

Michaelis, L., und D. Davidsohn, 1911: Die Wirkung der Wasserstoffionen auf das Invertin. Biochem. Z. **35**, 386—412.

Remy, P., 1953: Contribution à l'étude des pollen des arbres fruitières à nogau, genre *Prunus*. Ann. amélior. plantes, Sér. B, **3**, 351—388.

Schlösser, L. A., 1951: Infektionszeitpunkt und Ertragsminderung bei gelbsuchtinfizierten *Beta*-Rüben. Nachrbl. dtsch. Pflschtzd. Braunschw. **3**, 54—56.

Schoch-Bodmer, H., 1938: Die Veränderlichkeit der Pollengröße bei *Lythrum Salicaria*. Flora, n. F. **33**, 69—110.

Steudel, W., und A. Heiling, 1954: Die Vergilbungskrankheit der Rübe. Mittlg. Biol. Zentralanst. Land- u. Forstw. Berlin-Dahlem Heft 79.

Valleau, W. D., 1932: Seed transmission and sterility studies of two strains of tobacco ringspot. Kentucky agr. exp. stat. Bull. **327**, 43—80.

— —, 1941: Experimental production of symptoms in so called recovered ring-spot-tobacco plants and its bearing on acquired immunity. Phytopathology **31**, 522 bis 533.

VENTER, J., 1956: Untersuchungen über tagesperiodische Amylaseaktivitätsschwankungen. Z. Bot. **44**, 59—76.

WATSON, M. A., D. J. WATSON and R. HULL, 1946: Factors affecting the loss of yield of sugar beet caused by beet yellows virus. I. Rate and date of infection; date of sowing and harvesting. J. agric. sci. **36**, 151—166.

WERFFT, R., 1951: Über die Lebensdauer der Pollenkörner in der freien Atmosphäre (Sonnen- und Ultraviolettbestrahlung). Biol. Zbl. **70**, 354—367.

WEISE, W., und TH. v. BRAND, 1933: Über die Anwendung der Methode von HAGEDORN und JENSEN auf die Bestimmung anderer Zuckerarten. Biochem. Z. **264**, 357—360.

WILKINSON, J., 1952: Some effects induced in *Nicotiana glutinosa* by the „aspermy“ Virus of Tomato. Ann. bot. n. S. **17**, 219—223.

Soeben erschien:

Die Waldkrankheiten

Ein Lehrbuch der Forstpathologie und des Forstschutzes

Von Prof. Dr. FRITZ SCHWERDTFEGER
Niedersächsische Forstliche Versuchsanstalt, Göttingen

2., neubearbeitete Auflage 1957. 486 Seiten mit 199 Abbildungen. Ganzleinen DM 39,40

Prof. SCHWERDTFEGER geht in seinem Standardwerk über die Waldkrankheiten davon aus, daß Forstpathologie und Forstschutz als Lehre vom gefährdeten, in seiner Harmonie gestörten Wald nicht allein vom Schaden oder Schädling und deren Folgen abgeleitet werden dürfen, sondern von der biologischen und wirtschaftlichen Einheit des Waldes, von seinem Bestand her zu betrachten sind.

Grundlage dieser Betrachtung ist hinreichende Kenntnis der Schadensursachen, die in einem speziellen Teil vorgeführt werden. Neben den Einwirkungen aus der unbelebten Welt, wie Feuer, Rauch, Sturm usw., werden die zahlreichen organismischen Schaderreger, vor allem Pilze und Insekten, aber auch deren natürliche Gegenspieler in systematischer Folge behandelt. Entstehung, Art und Bekämpfung des Schadens werden dabei für jede einzelne Schadensursache geschildert.

Der allgemeine Teil, der dem Werk seine Eigenart gibt, will das Verständnis für die großen Zusammenhänge wecken. Unter ganzheitlich-ökologischer Fragestellung werden darin die sowohl auf Seiten des Schadenserregers wie auf Seiten des Waldes notwendigen Voraussetzungen geprüft, die den Ausbruch der Krankheit und den Eintritt der Schadwirkung ermöglichen. Ferner werden der Verlauf der Krankheiten mit ihren biologischen und wirtschaftlichen Auswirkungen untersucht und diejenigen Verhütungs- und Abwehrmaßnahmen dargestellt, die der Mensch zum Schutz des von ihm betreuten und wirtschaftlich genutzten Waldes ergreifen kann.

Als Gesamtdarstellung der Lehre vom kranken Wald wendet sich das Buch in erster Linie an den Studenten der Forstwissenschaft, an den praktischen Forstmann und an den Forstwissenschaftler. Darüber hinaus gibt es dem in benachbarten Wissensfächern Arbeitenden, insbesondere dem Botaniker, dem Phytopathologen, Zoologen und Entomologen ein anschauliches Bild von der großen Mannigfaltigkeit des Geschehens in der so vielfältig aufgebauten Lebensgemeinschaft des Waldes. Schließlich ist das Buch auch für alle diejenigen, die im allgemeinen Pflanzenschutz, in der Pflanzenschutzmittel- und in der Geräteindustrie tätig sind, ein wertvolles Nachschlagebuch.

VERLAG PAUL PAREY / HAMBURG UND BERLIN

Verlag: Paul Parey, (1) Berlin SW 61, Lindenstr. 44-47, Tel. 61 44 68/69. Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 10—12 Hefte (4 Hefte = 1 Band).